Temperaturabhängigkeit des Elektroantennogramms und des Elektrosensillogramms bei verschiedenen Schmetterlingsarten

von

Klaus Dippold

aus Bamberg

Diss
Erlangen

Temperaturabhängigkeit des Elektroantennogramms und des Elektrosensillogramms bei verschiedenen Schmetterlingsarten

Den Naturwissenschaftlichen Fakultäten
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg
zur
Erlangung des Doktorgrades

vorgelegt von
Klaus Dippold
aus Bamberg

Als Dissertation genehmigt von den Naturwissenschaftlichen Fakultäten der Universität Erlangen-Nürnberg

Tag der mündlichen Prüfung:	14.05.1986
Vorsitzender der Promotionskommission:	Prof. Dr. K. Brodersen
Erstberichterstatter:	Prof. Dr. H.J. Bestmann
Zweitberichterstatter:	Prof. Dr. G. Seitz

INHALT

		Seite
1.	Einleitung	1
2.	Grundlagen	4
2.1.	Die Schmetterlingsantenne	4
2.1.1.	Makroskopischer Bau	4
2.1.2.	Mikroskopischer Bau	8
2.2.	Die sensorische Transduktion	11
3.	Material und Methode	13
3.1.	Material	13
3.2.	Methode	13
3.2.1.	Die Summenableitung an der Antenne: Das Elektroantennogramm (EAG)	13
3.2.2.	Die Ableitung von einzelnen Sensillen: Das Elektrosensillogramm (ESG)	14
3.2.3.	Apparatur	15
3.2.4.	Kontrollexperimente	19
3.2.5.	Technische Daten	20
4.	Ergebnisse	21
4.1.	Elektroantennogrammableitung (EAG)	21
4.1.1.	Temperaturabhängigkeit der EAG-Amplitude	21
4.1.1.1.	Optimumskurven bei kontinuierlichem Temperaturprogramm	22
4.1.1.2.	Alterung des Präparats	26
4.1.1.3.	Optimumskurven bei stufenförmigem Temperaturprogramm	29
4.1.1.4.	Hysterese bei kontinuierlichem Temperaturprogramm	30
4.1.1.5.	Hysterese bei stufenförmigem Temperaturprogramm	42
4.1.2.	Temperaturabhängigkeit des EAG-Verlaufs	45

Seite

4.2. Elektrosensillogrammabteilung (ESG) 49
4.2.1. Temperaturabhängigkeit des Rezeptorpotentials 51
4.2.2. Hysterese 56
4.2.2.1. Kontinuierliche Temperaturänderung 56
4.2.2.2. Stufenartige Temperaturänderung 58
4.2.3. Temperaturabhängigkeit des Rezeptorpotentials und der Impulsfrequenz 64

5. Diskussion 70
5.1. Kurze Zusammenfassung der gemeinsamen Meßergebnisse bei EAG und ESG 70
5.2. Diskussion der Ableitmethode 71
5.3. Optimumskurven 73
5.4. Hysterese 77
5.5. Erklärung der Ergebnisse an Hand eines Schemas 82
5.6. Temperaturabhängigkeit der Impulsfrequenz, des Rezeptorpotentials und dessen Umsetzung in Aktionspotentiale 87
5.7. Die biologische Bedeutung der Optimumskurven 88

6. Ausblick 91

7. Zusammenfassung 92

8. Literaturverzeichnis 94

9. Danksagung 105

10. Lebenslauf 106

1. Einleitung

Seit 1959 nennt man der intraspezifischen Kommunikation dienende Stoffe nicht mehr Ektohormone, sondern Pheromone. Nachdem Butenandt im gleichen Jahr den Sexuallockstoff Bombykol des Seidenspinners Bombyx mori entdeckt hatte, konnten seither bei der Strukturaufklärung und Wirkungsweise von Pheromonen erhebliche Fortschritte erzielt werden (vergleiche die Übersichtsartikel von: Schneider 1963a, 1980, 1984, Kaissling 1971, Jacobson 1972, Priesner 1973, Bestmann und Vostrowsky 1980, 1982a, Arn 1985).

Die Pheromonforschung befaßt sich nicht nur mit der Isolierung und Identifizierung der bei Insekten gefundenen chemischen Substanzen, sondern versucht auch deren Wirkungsweise bei der intraspezifischen Kommunikation zu erforschen. Deshalb werden Verhaltensversuche zur Feststellung der Funktion der identifizierten Duftstoffe sowohl im Freiland als auch im Windkanal durchgeführt (z.B. Baker und Cardé 1984; Cardé und Eklinton 1984).

Das weitere Interesse gilt der Untersuchung des Geruchsvorganges, der es ermöglicht, die durch die chemische Substanz überbrachte Information zu erkennen. Dazu dienen von Art zu Art verschieden gestaltete Antennen, die mit Riechhaaren ausgestattet sind, durch deren Anordnung die Duftmoleküle aus dem Luftstrom herausgefiltert werden. Diese gelangen von der Oberfläche des Riechhaares durch Poren und Kanäle in das Haarinnere zur Dendritenmembran. Bei Wechselwirkung mit speziellen rezeptiven Einheiten kommt es auf Grund von Permeabilitätsänderungen zur Bildung von Rezeptorpotentialen; die dadurch induzierten Aktionspotentiale leiten die im Reiz enthaltene Information an zentrale Ganglien weiter. Man bezeichnet die physikalisch-chemischen Vorgänge außerhalb der Zelle als "Reiz" und jene innerhalb als "Erregung". Den Vorgang, in dem der Reiz in Erregung umgesetzt wird, nennt man "sensorische Transduktion".

Das "Reiz-verarbeitende System" ist an Membranen gebunden, die vor allem aus Proteinen, Phospho- und Sphingo-Lipiden

bestehen. Von letzteren weiß man, daß sie eine temperaturabhängige Phasenumwandlung zeigen; dabei gehen die Lipide von der kristallinen in die flüssige Phase über. Die Temperatur, bei der dies erfolgt, ist von der Kettenlänge der Kohlenwasserstoffe, deren Saturierungsgrad und von der chemischen Struktur der Kopfgruppen abhängig (Träuble 1971). Lipid und Protein bilden ein kooperatives System; der Zustand der Lipide beeinflußt die Konformation und laterale Verteilung der eingebauten Enzyme und damit auch deren Funktion (Sackmann 1982). In diesem Zusammenhang wird der Einfluß der Fluidität der Membranlipide in der "Mikroumgebung" der Ionenkanäle auf deren Öffnungsgrad diskutiert (Romey 1980). Weiterhin wird darauf hingewiesen, daß auch elektrostatische und hydrophobe Wechselwirkung zwischen Lipiden und Proteinen die Konformation des Proteins beeinflussen können und damit die Rezeptorfunktion modifizieren (Helenius und Simons 1975; Williams 1975).

Der Übergang der Lipide von der kristallinen in die flüssige Phase und umgekehrt stellt einen hochkooperativen Prozeß dar; dafür spricht auch die Tatsache, daß beim Durchlaufen von Temperaturzyklen unter bestimmten Bedingungen Hysterese auftritt. Diese ist reproduzierbar und wird deshalb auch in aufeinanderfolgenden Temperaturdurchgängen beobachtet. Es werden also echte metastabile Zustände durchlaufen. Das Ausmaß der Hysterese hängt bei den synthetisch hergestellten Lipidmembranen von der Reinheit der verwendeten Substanzen, von der Anwesenheit anderer Moleküle in den Lipidstrukturen (z.B. Fettsäuren, Cholesterin) und von der Gegenwart bestimmter Ionen und Moleküle in der Wasserphase ab. Zu diesen Erkenntnissen kam Träuble 1971 durch Messungen an synthetisch hergestellten Lipidmembranen.

Es sei darauf hingewiesen, daß ähnliche Effekte bei kooperativen Umwandlungen z.B. beim Ferromagnetismus auftreten und durch Hemmung von Umwandlungsprozessen verursacht werden. Die Alternative hierzu wären Hemmungen des Keimbildungsmechanismus bei der Phasenumwandlung der Lipide.

Ergebnisse von Struktur-Aktivitäts-Beziehungen (Priesner et al. 1975, Bestmann et al. 1979, Bestmann und Vostrowsky 1982b) und Untersuchungen über den Einfluß von ungesättigten Fettalkoholen und deren Derivate auf den Phasenübergang von künstlichen Membranen (Wax 1984) führten zu der Vorstellung, daß Lipide bei der Reizrezeption des Geruchsvorganges eventuell eine Rolle spielen könnten. Wenn dies zutrifft, sollten sich auch hier wie bei den oben genannten Untersuchungen von Wax Hysterese-Effekte zeigen, die sich bei elektrophysiologischen Messungen bemerkbar machen sollten.
In der vorliegenden Arbeit wird deshalb die Temperaturabhängigkeit von Elektroantennogrammen und Einzelsensillenableitungen untersucht.

2. Grundlagen

2.1. Die Schmetterlingsantenne

2.1.1. Makroskopischer Bau

Insekten nehmen Gerüche vor allem mit Hilfe ihrer paarigen Antennen wahr, die nicht nur Rezeptoren für Pheromone, sondern auch für CO_2, Feuchtigkeit, Geschmack, Luftgeschwindigkeit, Schall und Wärme tragen. Durch Mutation und unter dem Druck der Selektion haben sich ganz unterschiedliche, dem Lebensraum und der Funktion angepaßte Antennen entwickelt (Abb. 1). Bezogen auf die Chemorezeption sind diese bei einigen Saturniidenarten am besten angepaßt. Sie besitzen in manchen Fällen eine Oberfläche von mehr als 1 cm^2 mit Tausenden von Geruchssinneshaaren (Sensillen).

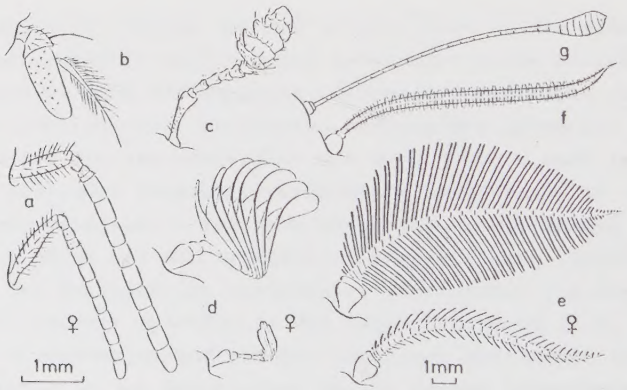

Abb. 1: Antennen von männlichen und weiblichen Insekten; gemeinsame Skala (1 mm) für a - d und e - g; a) Apis melifera b) Gatt. Sarcophaga c) Gatt. Necrophorus d) Gatt. Rhopaea e) Gatt. Antheraea f) Gatt. Pergesa g) Gatt. Vanessa; (Kaissling 1971)

Abb. 2 zeigt am Beispiel einer Saturniidenantenne die Anordnung der Geruchssensillen zum Ausfiltern von Duftmolekülen aus der durchstreichenden Luft. Unter einem Sensillum versteht man einen Bezirk der Cuticula mit spezialisierten Epidermis- und Nervenzellen, einschließlich eventueller weiterer Hilfszellen. Man erkennt neben vielen langen Sensilla trichodea an der distalen Kante der Glieder links breite Sensilla styloconica und über Glieder und Äste verstreut (als Kreise eingezeichnet) Sensilla coeloconica. Die mittellangen Haare sind Sensilla basiconica.

Abb. 2: Antheraea polyphemus (Saturniidae);
2 Glieder der rechten Antenne eines Männchens,
von oben betrachtet.
(Boeckh et al. 1972)

Das Integument der Insekten besteht aus der einschichtigen Epidermis und der von dieser produzierten festen Cuticula. Diese, sowie die Rezeptoren der Antenne, sind ektodermalen Ursprungs. In frühen Entwicklungsphasen differenzieren sich bestimmte Epidermis-Zellen, die dann später für die Bildung von Haaren, Schuppen, Zapfen und Borsten zuständig sind. Auch die Sinnesnervenzelle entsteht durch differentielle Teilung aus einer Epidermiszelle. Das Soma dieser bipolaren Nervenzelle bleibt im Verband der Epidermis; eine lange Faser wächst zum Gehirn, eine kurze verzweigte oder unverzweigte nimmt mit dem spezialisierten cuticulären Gebilde Verbindung auf (Schneider 1963b).
In jedem Sensillum befinden sich eine oder mehrere Sinneszellen. Man unterscheidet fünf morphologisch verschiedene Geruchssensillentypen (Abb. 3).

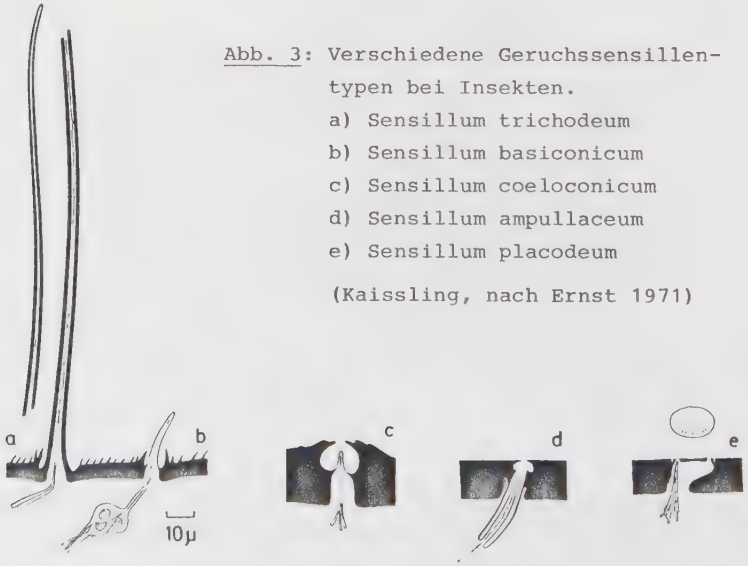

Abb. 3: Verschiedene Geruchssensillentypen bei Insekten.
a) Sensillum trichodeum
b) Sensillum basiconicum
c) Sensillum coeloconicum
d) Sensillum ampullaceum
e) Sensillum placodeum

(Kaissling, nach Ernst 1971)

Das Sensillum trichodeum besteht aus einem langen Haar mit den Dendriten mehrerer Sinneszellen (z.B. Bombyx mori, Anthe-

raea polyphemus). Das Haar von Sensillum basiconicum ist bedeutend kürzer und beinhaltet bei Antheraea polyphemus drei Sinneszellen. Dieselbe Anzahl besitzt Sensillum coeloconicum; dieses stellt aber ein Grubenorgan dar (z.B. Locusta migratoria). Bei Apis melifera beinhaltet Sensillum ampullaceum wahrscheinlich eine und Sensillum placodeum achtzehn Sinneszellen (Kaissling 1971).
Nicht nur die Sensillentypen und ihre Oberfläche, sondern auch die Anzahl der Poren und Tubuli variieren innerhalb der Insektenarten sehr stark (Tabelle 1).

Art	Sensillum	Länge µm	Oberfläche µm²	Poren pro µm²	Porenanzahl	Tubuli pro Pore	Anzahl der Zellen	Tubuli pro Zelle
Antherea pernyi	trichodeum	300	3000	6	18000	4	(1-)3	24000
Bombyx mori	trichodeum	100	600	3-8	2500	5	2	6000
Necrophorus vespilloides	basiconic.I	40	150	100	15000	7	1	105000
	basiconic.II	15	50	100	5000	8	2	20000
Apis melifera	placodeum	-	40	125	5000	4	18	1100
Locusta migratoria	basiconicum	10	150	20	3000	20	35	1700

Tabelle 1: Morphologische Daten von Geruchssensillen (Kaissling 1971)

Das Porensystem in der Wand der Geruchssensillen ist der angenommene Weg, durch den die Duftmoleküle in das Sinneshaar eindringen. Versuche mit Bombyx mori haben gezeigt, daß die ganze Haaroberfläche als Adsorptionsstelle für die Duftmoleküle dient. Diese gelangen durch Diffusion zu den Poren und durch die Tubuli in das Innere des Sinneshaares.

2.1.2. Mikroskopischer Bau

Die weiteren Betrachtungen befassen sich mit den Sinneshaaren von Antheraea polyphemus und Antheraea pernyi. Neueste morphologische Untersuchungen zeigen, daß das Sensillum trichodeum dieser beiden Arten meistens zwei, manchmal drei, in seltenen Fällen einen oder vier unverzweigte Dendriten enthält (Abb. 4).

Abb. 4: Rekonstruktion zweier Sensilla trichodea von Antheraea polyphemus (S1, S2). Die Haarlänge ist im Verhältnis 13:1 reduziert (Keil 1984).

Von jedem sensorischen Neuron gehen Dendriten aus. In der Regel gibt es einen Dendriten mit größerem Durchmesser, der eine große Anzahl von Mikrotubuli enthält und ein oder zwei mit kleinerem Durchmesser und mit weniger Mikrotubuli.
Der dünne Dendrit besitzt zahlreiche Anschwellungen und Einschnürungen; im Gegensatz dazu zeigt der dickere Dendrit eine

gerade und regelmäßige Form (Keil 1984). In der Basis des olfaktorischen Sensillums befinden sich drei Hilfszellen und die Pericaryen der Rezeptorzellen, deren Dendriten sich in das Haarlumen erstrecken (Abb. 5).

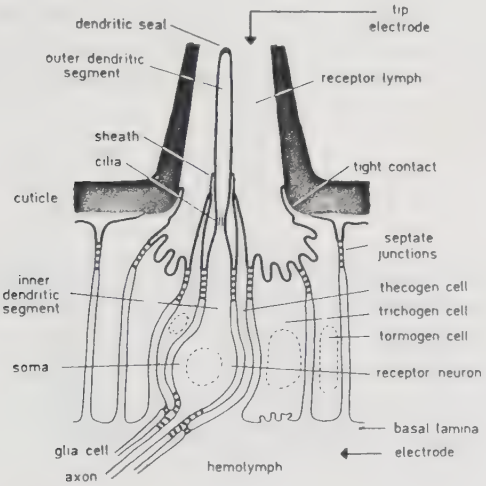

Abb. 5: Schematisches Diagramm eines Sensillums mit abgeschnittener Spitze. Modifiziert nach Keil und Steinbrecht (1983).

Es wird vermutet, daß die tormogenen und trichogenen Zellen mit ihren apical gefalteten Membranen und mit ihrer dadurch großen Oberfläche von 2000-3000 μm^2 die elektrischen Eigenschaften der Sinneszellen beeinflussen (de Kramer et al. 1984).

Die distalen Ausläufer der Sinneszellen, die Dendriten, stehen über Wandkanälchen (Tubuli) und Poren mit der die Geruchssensillen umgebenden Luft in Verbindung (Abb. 6).

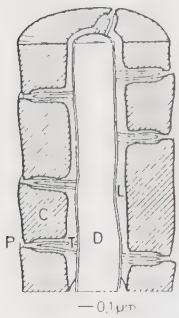

Abb. 6: Bombyx ♂ . Pheromon-Riechhaar (Ausschnitt): Die Wand (C, Cuticula) hat Poren (P), welche sich in Porentubuli fortsetzen (T). Die Tubuli erreichen vielfach (stets?) die Membran des Dendriten (D). Der Dendrit ist im Lumen des Haares von der Receptorlymphe umgeben. Aus Kaissling (1978) nach einem Original von Steinbrecht und Kasang (1972).

Abb. 7 zeigt den angenommenen Weg der Pheromonmoleküle zur Dendritenmembran. Haben die Duftmoleküle (kleine schwarze Punkte) die Poren erreicht, so gelangen sie durch die Tubuli an die Dendritenmembran der Sinneszelle, wo sie auf hypothetische Rezeptormoleküle (große schwarze Scheiben) treffen und schließlich eine lokale Öffnung der Zellmembran für einen Ionenstrom bewirken. Der Öffnungsmechanismus ist noch unbekannt. Außerdem ist noch nicht geklärt, wie die Duftmoleküle inaktiviert werden. Als Möglichkeit ist ein Übertritt der Duftmoleküle in die extrazelluläre Flüssigkeit oder ins Zellinnere angedeutet (Pfeile und Fragezeichen). (Kaissling 1974a)

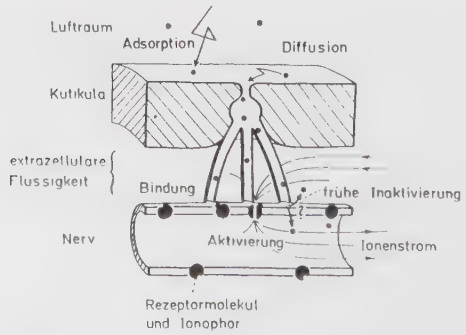

Abb. 7: Schematische Abbildung eines Ausschnitts aus der Cuticula mit einer Pore, drei Wandkanälchen und dem angeschnittenen Stück einer Nervenfaser.

2.2. Die sensorische Transduktion

In jeder Zelle bildet die Membran die Grenze zwischen Innen- und Außenmedium. Zwischen beiden Medien besteht in der Regel eine Potentialdifferenz von etwas weniger als 100 mV, das Membranpotential, das meist einigermaßen konstant ist und Ruhepotential genannt wird. Dieses ist das Gleichgewichtspotential, das sich aus der Verteilung verschiedener Ionen und der unterschiedlichen Membranleitfähigkeit für sie ergibt.

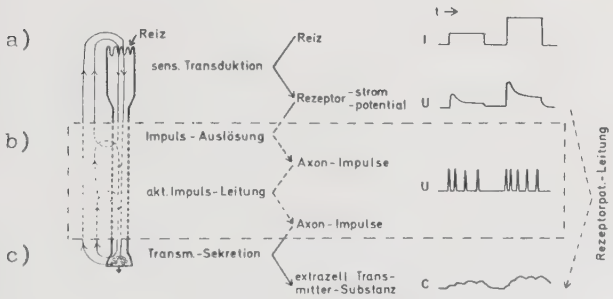

Abb. 8: Erregungsbildung und Leitung in einer Rezeptorzelle. C: Konzentration der Transmittersubstanz; I: Reizintensität; U: Membranpotential; jeweils als Funktion der Zeit t.
(Thurm 1978)

Durch die Einwirkung eines adäquaten Reizes auf die Dendriten der Sinneszelle kommt es zu einer Änderung des Membran-Potentials, die als Rezeptorpotential bezeichnet wird (Abb. 8a). Diese graduierte Depolarisation breitet sich sehr schnell, wenn auch unter Amplitudenverlust, passiv über die Membran der Sinnesnervenfaser aus und induziert in einer bestimmten Membranzone die dann zentralwärts wandernden Nervenimpulse (Abb. 8b), während in deren Frequenz die Reizstärke codiert wird. Am Axonende bewirken die Aktionspotentiale die Aus-

schüttung von Überträgersubstanz (Transmitter) (Abb. 8c). Durch diese wird die im Reiz enthaltene Information an nachgeschaltete Nervenzellen weitergegeben.
Die Umsetzung des Reizes in den Rezeptorstrom ist ein Steuervorgang, dessen Energie durch den Stoffwechsel der Zelle zur Verfügung gestellt wird. Der Steuerprozeß ermöglicht es auch, daß eine Reizsubstanz, die nur mit wenigen Rezeptoren wechselwirkt, das Membranpotential der gesamten Sinneszelle über das Rauschen hinaus verändert.

3. Material und Methode

3.1. Material

Die verwendeten Schmetterlingsarten Agrotis segetum und Mamestra brassicae stammten aus Kunstfutterzuchten der Firma Hoechst, Frankfurt; Manduca sexta von J.G. Hildebrand, Columbia University of New York; Antheraea polyphemus vom Max-Planck-Institut für Verhaltensphysiologie, Seewiesen; Antheraea pernyi wurde aus China eingeführt.

3.2. Methode

3.2.1. Die Summenableitung an der Antenne: Das Elektroantennogramm (EAG)

Bei der Elektroantennogramm-Methode führt man zwei Elektroden distal und proximal in den Hauptast der Antenne ein (Schneider 1963b). Werden die Sensillen der Antenne durch einen Duftstoff gereizt, so mißt man zwischen den Elektroden eine Spannungsänderung. Diese wird als Elektroantennogramm (EAG) bezeichnet und geht nach kurzer Zeit auf den Ausgangswert zurück (Abb.9).

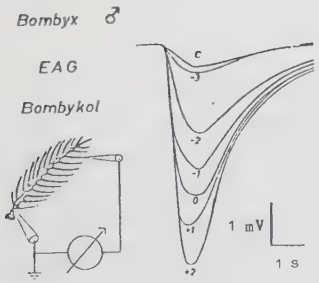

Abb. 9: Schematische Darstellung der Summenableitung und der mit dieser Methode gewonnenen EAG-Antworten bei verschiedenen Reizstärken von Bombykol; C: Kontrollpapier. Die Reizquellenbeladung in µg ist logarithmisch angegeben. (Boeckh et al. 1965)

Bei der Präparation für das EAG wurde eine Antenne vom Tier abgetrennt und mit der Basis auf eine Glaskapillarelektrode aufgesteckt, dann das distale Ende der Antenne abgeschnitten und in die dadurch entstehende Öffnung des Hämolymphraums des Antennenhauptastes die andere Glaskapillarelektrode eingeführt.

3.2.2. Die Ableitung von einzelnen Sensillen: Das Elektrosensillogramm (ESG)

Elektrophysiologische Ableitungen, die sowohl die Reaktion der einzelnen Zellen als auch die Identifizierung des zu einem bestimmten Pheromon gehörenden Sensillums ermöglichten, wurden zuerst von Morita und Yamashita 1961 durchgeführt.

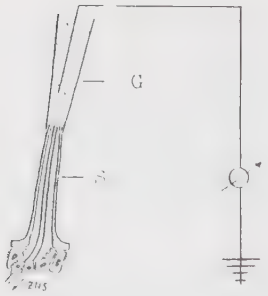

Abb. 10: Schema der Einzelsensillenableitung.
S: Sensillum; G: Glaskapillarelektrode.

Zur Einzelsensillenableitung wurde eine Antenne vom Tier entfernt und auf einer mit Ringerlösung gefüllten Glaskapillarelektrode, die als Referenzelektrode diente, fixiert. Anschliessend wurden die Spitzen einiger Sinneshaare eines Seitenastes mit einer speziell zugeschliffenen Pinzette abgezwickt (Kaissling 1974b) und über das abgeschnittene Ende die Ableitelektrode geschoben (Abb. 10). Diese war mit einer 20 %-igen Lösung von Polyvinylpyrrolidon K 90 (Fluka AG) in Rezeptorlymphringer gefüllt (Kaissling und Thorson 1980).

3.2.3. Apparatur

Für die Untersuchung der Temperaturabhängigkeit wurde folgende Rechner-gesteuerte Apparatur entwickelt (Abb. 11).

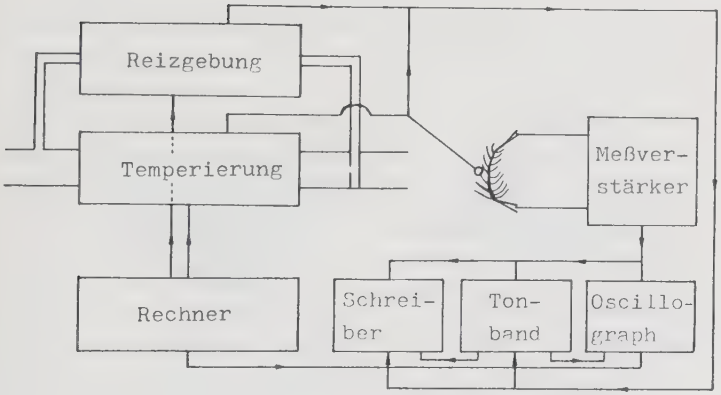

Abb. 11: Schematischer Apparaturaufbau

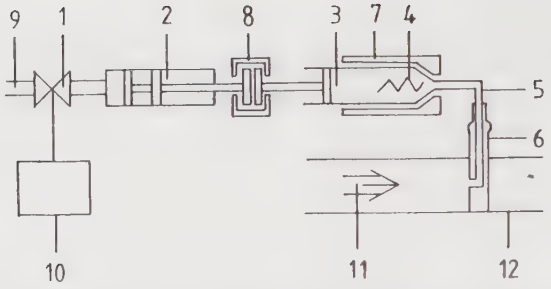

Abb. 12: Skizze der Reizgebungsanordnung für die EAG-Ableitung

1) Ventil
2) pneumatischer Zylinder
3) Einwegspritze
4) Filterpapier
5) Silikonschlauch
6) Messing-Vierkantstück
7) Spritzenhalterung
8) Verbindungsstück: Spritze-Zylinder
9) Druckluft
10) Ventil-Netzteil mit Ansteuerung
11) Dauerluftstrom
12) Glasrohr

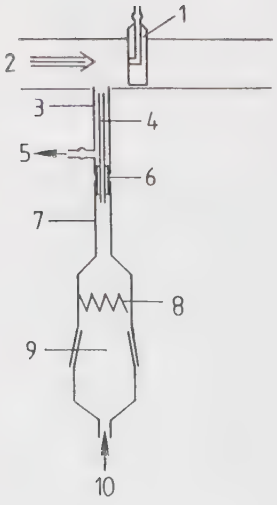

Abb. 13: Skizze der Reizgebungsanordnung für ESG-Ableitungen

1) Messingstück, 5x5 mm
2) Dauerluftstrom
3) Glasröhre, 60 mm, 3.5 mm i.D.
4) Glaskapillare, 65 mm, 1.0 mm i.D.
5) Absaugöffnung
6) Silikonschlauch
7) Glasröhre, 100 mm, 3.5 mm i.D.
8) gefaltetes Filterpapier
9) Kern-Hülse-Steckverbindung, 14.5 mm i.D.
10) Öffnung für gereinigte Druckluft

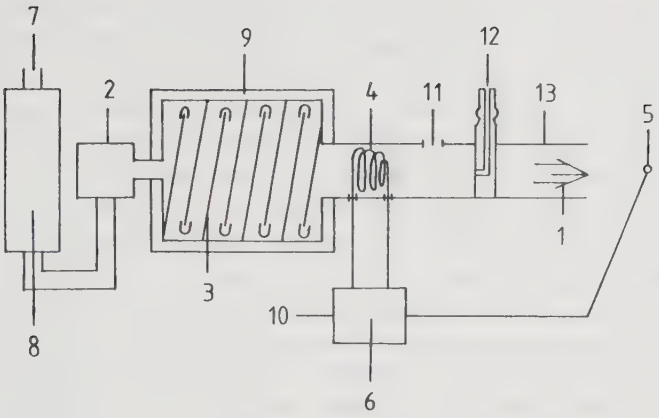

Abb. 14: Skizze der Temperierungseinheit

1) Dauerluftstrom
2) Rotameter
3) Kühlrippen
4) Heizspirale
5) Thermistor
6) Temperaturregler
7) Druckluft
8) Aktivkohlefilter
9) Plexiglas
10) Sollwerteingang
11) ESG-Reizgebungseingang
12) EAG-Reizgebungseingang
13) Glasrohr

Bei der Reizgebung für EAG-Ableitungen wurde folgende Anordnung gewählt (Abb. 12):
Durch ein elektrisch schaltbares Ventil (1) wird ein pneumatisch betriebener Zylinder (2) angesteuert, der den Stempel einer Einwegspritze (3) betätigt. In dieser befindet sich der auf Filterpapier (4) aufgetragene Duftstoff. In der Spritze bildet sich im aufgezogenen Zustand zeit- und temperaturabhängig eine Duftwolke mit zunehmender Konzentration. Da jedoch die Reizpausen und die Außenbedingungen der Spritze konstant gehalten werden, ist die Reizstärke in einer Versuchsserie als gleichbleibend anzusehen. Dies konnte dadurch experimentell bestätigt werden, daß bei konstanter Temperatur und repetitiver Reizung gleiche EAG-Amplituden erreicht wurden. Zur Reiz-

gebung werden durch Vorschub des Spritzenstempels in 1 s 8 ml des Luft-Duftstoffgemisches durch einen 5 cm langen Silikonschlauch (5) (Ø = 2 mm) und ein Messing-Vierkantstück (6) mit Innenröhre dem Dauerluftstrom beigemischt. Durch die Öffnung des Vierkantstückes gegen den Luftstrom und durch die Kanten wird eine gute Verwirbelung der Duftluft mit dem Dauerluftstrom gewährleistet. Nach der Reizgebung wird die Spritze automatisch aufgezogen. Unter dem Präparat befindet sich eine Absaugvorrichtung, die die nicht zur Antenne gelangten Duftmoleküle vom Präparat und aus dem Labor entfernt.

Um bei den ESG-Ableitungen längere Reizdauern mit gleichbleibender Reizquantität pro Sekunde zu ermöglichen, wurde folgende Reizgebung entwickelt (Abb. 13). Der Duftstoff wird auf einem 2 cm x 6 cm großen und gefalteten Filterpapierstück (8) aufgetragen. Dieses befindet sich in einer Kammer, die mit Hilfe einer Kern-Hülse-Steckverbindung (9) geöffnet werden kann. Auf dem Hülsenteil ist eine Glasröhre (7) aufgesetzt. Dieses wird durch ein Stück Silikonschlauch (6), in den eine Glaskapillare (4) eingeführt ist, abgedichtet. Auf das von der Glasröhre überstehende Stück Silikonschlauch wird ein weiteres Glasrohr (3), an dem sich seitlich eine Öffnung mit Olive (5) befindet, aufgeschoben. Durch diese Öffnung wird ständig Luft abgesaugt, um die aus der Glaskapillare herausdiffundierenden Duftmoleküle zu entfernen. Dadurch wird eine Adaptation des Präparates vermieden. Der Anfang dieses Glasrohres wird in eine Bohrung des Glaszylinders des Dauerluftstroms (2) eingeführt. Gereizt wird durch Einblasen einer definierten, mit Pheromon beladenen Luftmenge durch das ausgezogene Kernstück. An diesem wird der Luftdruck (10) so groß gewählt, daß bei Reizung die Luftmenge, die durch die Kapillare austritt, deutlich größer ist, als die Menge, die ständig abgesaugt wird. Das viereckige Messingstück (1), das schon für die Reizgebung zur EAG-Ableitung verwendet wurde, sorgt auch hier für die Vermischung der "Reizluft" mit dem Dauerluftstrom. Außerdem bietet die Innenröhre mit Auslaßrichtung gegen den Dauerluftstrom die Möglichkeit, eine zweite Pheromonkomponente diesem ohne Fahnenbildung beizumischen.

Zur Temperierung der zum Heizen und Kühlen verwendeten Luftmenge wurde folgende Anordnung gewählt (Abb. 14): Das Antennenpräparat befindet sich in einem Dauerluftstrom (1) von 200 ml/s. Die Durchflußmenge wird mit einem Rotameter (2) gemessen. Dieser Dauerluftstrom wird von Kühlrippen (3), die auf Peltierelementen aufgesetzt sind, auf ca. -30°C abgekühlt. Die Erwärmung auf die gewünschte Temperatur erfolgt mittels einer Heizspirale aus Platindraht (4). Die Temperatur des Präparats wird mit einem Thermistor (5) an der Antenne gemessen. Diese Temperatur wird als Istwert einem Regler (6) zugeführt, der die vom Rechner als Sollwert vorgegebene Temperatur mit Hilfe des als Heizspirale verwendeten Platindrahts einstellt. Die Steuerung erfolgt durch einen Rechner (Commodore 64). Er gibt dem Temperaturregelkreis den Sollwert und auch dessen Änderung pro Zeiteinheit vor. Mit Hilfe des Rechners wird auch das Zeitprogramm für die Reize festgelegt. Des weiteren gehen die elektrischen Impulse für die Ansteuerung der "Gate-Delay"-Einheiten von ihm aus. Durch diese wird ein Puls um einstellbare Zeiten ($1x10^{-3}$ bis 6 s) verzögert und dient entweder zur Ansteuerung anderer "Gate-Delay"-Einheiten oder zum Schalten von Relais. Deren Durchschaltdauer wird auch durch diese Einheiten bestimmt. So wird erreicht, daß Schreiber und Tonband zwei Sekunden vor Reizbeginn automatisch auf Aufnahme schalten, die Reizgebung erfolgt und neun Sekunden nach dem Reiz Schreiber und Tonband wieder auf "stand by" gestellt werden.

3.2.4. Kontrollexperimente

Die beiden Glaskapillarelektroden wurden mit Ringer-Cellulose-Tropfen (Natrium-Carboxymethylcellulose) verbunden und unter Versuchsbedingungen einem Temperaturzyklus ausgesetzt. Polarisation an den Elektroden oder ähnliche Störfaktoren wurden nicht gefunden.
An einem intakten Antennenpräparat wurde ohne Duftstoffreiz (Spritze nicht beladen) unter Versuchsbedingungen gemessen.

Mögliche durch den Spritzenvorschub am Präparat entstehende Druck- und Temperaturänderungen wurden dadurch ausgeschlossen. Das elektrische Rauschen der gesamten Meßapparatur ist kleiner 0.1 mV.

3.2.5. Technische Daten

Meßverstärker, Gate-Delay-Einheiten, Relais und der Intervallgenerator wurden vom Max-Planck-Institut für Verhaltensphysiologie (MPIV), Seewiesen, bezogen. Die stabilisierten Netzteile für die Peltierelemente, der Temperatur-Regelkreis und das Interface Rechner-Apparatur wurden in Zusammenarbeit mit der Elektronikwerkstatt des MPIV, Seewiesen, hergestellt. Die Ansteuerung und Stromversorgung für die Reizgebung wurde in der Elektronikwerkstatt der Universität Erlangen-Nürnberg entwikkelt. Die mechanischen Teile des Meßplatzes, wie Meßtisch, Faraday-Käfig, Kühlung und Anordnung für den Spritzenvorschub wurden in der Mechanikwerkstatt des Instituts für Organische Chemie der Universität Erlangen-Nürnberg angefertigt.

Außerdem wurden die folgenden Geräte verwendet:
Rotameter: Fa. Rota, Wehr, L 40/1600-7094
Peltierelemente: Fa. Peltron, Nürnberg, PKE 36 C 101
Thermistor: Ferwal Electronics, Framingham, Mass., BC 32L1
Ventil: Fa. Festo, Essling, MFH-3-M5
Zylinder: Fa. Festo, Essling, DSN-25-40-P-A
Rechner: Commodore 64
Schreiber: Schwarzer, München, US 266
Oscilloskop: Fa. Vuko, Obertshausen, Digitalscope VKS 22-16
Mikro-Manipulatoren: Leitz, Wetzlar

4. Ergebnisse

Alle hier dargestellten Ergebnisse wurden an Antennenpräparaten von männlichen Tieren gemessen.

4.1. Elektroantennogramm-Ableitung (EAG)

4.1.1. Temperaturabhängigkeit der EAG-Amplitude

Die Temperatur wurde im Bereich 0-30°C bzw. 35°C kontinuierlich erhöht oder erniedrigt. Die Temperaturänderung betrug in der Regel 5°C/min und die Elektroantennogramme wurden in Schritten von 5°C gemessen. Die Antenne wurde vorher auf die Temperatur von 15°C adaptiert; in einem Meßzyklus blieben Reizsubstanz und Reizquellenbeladung konstant. Abb. 15 zeigt einen für dieses Temperaturprogramm typischen Verlauf. Beträgt die EAG-Amplitude bei 0°C 0.5 mV, so wird sie bis 15°C kontinuierlich größer und hat bei 15°C einen Wert von 1 mV. Bei weiterer Temperaturerhöhung nimmt die Amplitude bis zu 0.5 mV bei 30°C ab.

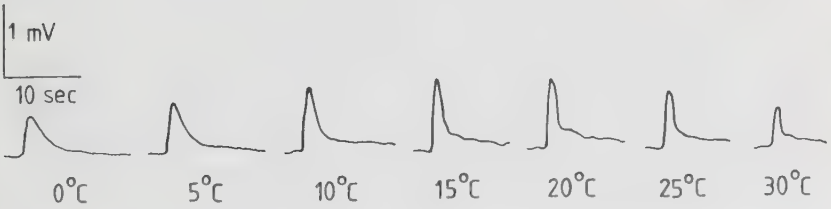

Abb. 15: Agrotis segetum; Elektroantennogramm bei verschiedenen Temperaturen; Reizquellenbeladung: 1.0 µg (Z)-5-Decenylacetat; Reizdauer: 1 s; Reizpause: 60 s; Adaptionstemperatur: 15°C

4.1.1.1. Optimumskurven bei kontinuierlichem Temperaturprogramm

Bei allen untersuchten Tieren weist die EAG-Amplitude in Abhängigkeit von der Temperatur ein Maximum auf. Tab. 2 zeigt dies für fünf verschiedene Schmetterlingsarten bei unterschiedlichen Reizquellenbeladungen. Zur besseren Vergleichbarkeit wurden die einzelnen EAG-Amplitudenwerte in einem Temperaturzyklus auf den Maximalwert normiert und anschließend die so bei verschiedenen Zyklen errechneten relativen Werte gemittelt und die dazugehörigen Q_{10}-Werte bestimmt (Tab. 3). Pro Art und Reizsubstanz sind die EAG-Amplituden in Abhängigkeit von der Temperatur für eine Reizstärke in Abbildung 16 graphisch dargestellt. Durch die Vergrößerung der Reizquellenbeladung erfolgt in den meisten Fällen eine Verschiebung der temperaturabhängigen EAG-Amplitudenmaxima zu höheren Temperaturen (vgl. die Verschiebung der unterstrichenen Maxima in Tab. 2). Dies wird exemplarisch für viele Messungen (Tab. 2) in Abbildung 17 für ein Tier von Agrotis segetum gezeigt. Die Werte sind bei den verschiedenen Konzentrationen jeweils auf den Maximalwert normiert, um die durch die Meßdauer bedingte Abnahme der Antworten zu korrigieren. Bei den verschiedenen Konzentrationen bleibt die Zunahme der EAG-Amplituden in Abhängigkeit von der Temperatur im Bereich zwischen 0 und 15°C konstant. Der Abfall der Amplituden nach der Optimumstemperatur ist für die verschiedenen Reizquantitäten jedoch unterschiedlich. Bei der Reizquellenbeladung von 100 µg wird keine Optimumskurve durchlaufen, sondern ein Plateau erreicht. Dieser Effekt ist reversibel. Reizt man nach der Beladung von 100 µg mit 1.0 µg, so wird wieder eine Extremwertkurve durchlaufen.

Schmetterlingsart	Reiz-quellen-beladung	n	normierte EAG-Amplitudenwerte mit Standardabweichung bei verschiedenen Temperaturen							
			0 °C	5 °C	10 °C	15 °C	20 °C	25 °C	30 °C	35 °C
rotis segetum	1.0 µg a)	36	0.65 ± 0.11	0.79 ± 0.11	0.92 ± 0.08	0.97 ± 0.05	0.94 ± 0.06	0.80 ± 0.11	0.60 ± 0.12	
	10.0 µg "	10	0.72 ± 0.12	0.84 ± 0.10	0.96 ± 0.06	0.97 ± 0.03	0.96 ± 0.06	0.90 ± 0.10	0.79 ± 0.09	
	100.0 µg "	2	0.47	0.57	0.71	0.83	0.96	0.98	1.00	
ntheraea pernyi	0,01 µg b)	4	0.68 ± 0.24	0.91 ± 0.14	0.93 ± 0.08	0.80 ± 0.15	0.66 ± 0.12	0.45 ± 0.15	0.24 ± 0.05	0.06 ± 0.02
	0.1 µg "	5	0.65 ± 0.18	0.89 ± 0.12	0.97 ± 0.05	0.88 ± 0.16	0.72 ± 0.18	0.61 ± 0.16	0.38 ± 0.19	0.10 ± 0.06
	1.0 µg "	3	0.74 ± 0.07	0.90 ± 0.14	0.93 ± 0.06	0.89 ± 0.08	0.88 ± 0.14	0.74 ± 0.23	0.58 ± 0.27	0.42 ± 0.15
ntheraea polyphemus	0.001 µg c)	2	0.41	0.74	1.00	0.79	0.72	0.59	0.55	
	0.01 µg "	2	0.42	0.83	1.00	0.75	0.62	0.42	0.33	
	1.0 µg "	4	0.57 ± 0.18	0.82 ± 0.07	0.96 ± 0.02	0.99 ± 0.02	0.94 ± 0.04	0.86 ± 0.03	0.71 ± 0.09	
	10.0 µg "	6	0.47 ± 0.06	0.54 ± 0.05	0.65 ± 0.06	0.83 ± 0.09	0.92 ± 0.05	0.98 ± 0.04	0.83 ± 0.09	
	100.0 µg "	4	0.35 ± 0.13	0.48 ± 0.21	0.76 ± 0.21	0.85 ± 0.18	0.91 ± 0.11	0.98 ± 0.05	0.89 ± 0.10	
	0.01 µg d)	4	0.39 ± 0.06	0.80 ± 0.16	0.97 ± 0.03	0.83 ± 0.15	0.54 ± 0.10	0.41 ± 0.17	0.22 ± 0.09	
	0.1 µg "	4	0.58 ± 0.06	0.82 ± 0.14	0.95 ± 0.07	1.00	0.92 ± 0.05	0.78 ± 0.04	0.40 ± 0.07	
	1.0 µg "	2	0.53	0.71	0.88	0.95	0.97	0.94	0.76	
Mamestra brassicae	1.0 µg e)	2	0.71	0.88	0.97	1.00	0.75	0.66	0.50	
	10.0 µg "	5	0.64 ± 0.19	0.76 ± 0.11	0.88 ± 0.10	0.95 ± 0.05	0.96 ± 0.05	0.93 ± 0.09	0.87 ± 0.15	
Manduca sexta	0.001 µg f)	4	0.61 ± 0.05	0.77 ± 0.16	0.97 ± 0.06	0.93 ± 0.14	0.88 ± 0.04	0.73 ± 0.15	0.52 ± 0.18	0.27 ± 0.08
	0.01 µg "	2	0.59	0.79	1.00	0.91	0.81	0.65	0.43	0.27
	0.1 µg "	6	0.62 ± 0.12	0.85 ± 0.06	0.97 ± 0.07	0.90 ± 0.12	0.71 ± 0.11	0.59 ± 0.14	0.43 ± 0.10	0.23 ± 0.12
	1.0 µg "	4	0.65 ± 0.11	0.81 ± 0.19	0.96 ± 0.05	0.97 ± 0.04	0.78 ± 0.09	0.56 ± 0.07	0.34 ± 0.05	0.21 ± 0.03
	10.0 µg "	2	0.61	0.83	0.93	1.00	0.88	0.77	0.59	0.39

Tab. 2: EAG-Amplitude in Abhängigkeit von der Temperatur bei verschiedenen Leipidopterenarten. Die in den einzelnen Meßzyklen aufgenommenen Amplitudenwerte wurden auf den maximalen Wert normiert; n bezeichnet die Anzahl der gemittelten Meßwerte; der bei einer bestimmten Reizquellenbeladung maximale EAG-Amplitudenwert ist unterstrichen. Reizdauer: 1s; Reizpause: 60s; Reizquellenbeladung: a) (Z)-5-Decenylacetat; b) (E)-6,(Z)-11-Hexadecadienal; c) (E)-6,(Z)-11-Hexadecadienylacetat; d) (E)-6,(Z)-11-Hexadecadienal; e) (Z)-11-Hexadecenylacetat; f) (E)-10,(Z)-12-Hexadecadienal.

Schmetterlingsart	Reiz-quellen-beladung	n	berechnete Q_{10} - Werte aus Tabelle 2					
			0 - 5 °C	5 - 10 °C	10 - 15 °C	15 -20 °C	20 -25 °C	25 - 30 °C
Agrotis segetum	1.0 µg a)	36	1.47	1.35	1.11			
	10.0 µg "	10	1.36	1.31	1.02			
	100.0 µg "	2	1.47	1.55	1.37	1.34	1.04	1.04
Antheraea pernyi	0,01 µg b)	4	1.78	1.04				
	0.1 µg "	5	1.87	1.19				
	1.0 µg "	3	1.48	1.07				
Antheraea polyphemus	0.001 µg c)	2	3.26	1.83				
	0.01 µg "	2	3.90	1.45				
	1.0 µg "	4	2.07	1.37	1.06			
	10.0 µg "	6	1.32	1.45	1.63	1.23	1.13	
	100.0 µg "	4	1.88	2.51	1.25	1.15	1.16	
	0.01 µg d)	4	4.21	1.47				
	0.1 µg "	4	2.00	1.34	1.11			
	1.0 µg "	2	1.79	1.54	1.16	1.04		
Mamestra brassicae	1.0 µg e)	2	1.54	1.21	1.06			
	10.0 µg "	5	1.41	1.34	1.16	1.02		
Manduca sexta	0.001 µg f)	4	1.59	1.59				
	0.01 µg "	2	1.79	1.60				
	0.1 µg "	6	1.88	1.30				
	1.0 µg "	4	1.55	1.40	1.02			
	10.0 µg "	2	1.85	1.25	1.16			

Tab. 3: Q_{10}-Werte berechnet aus Tabelle 2.

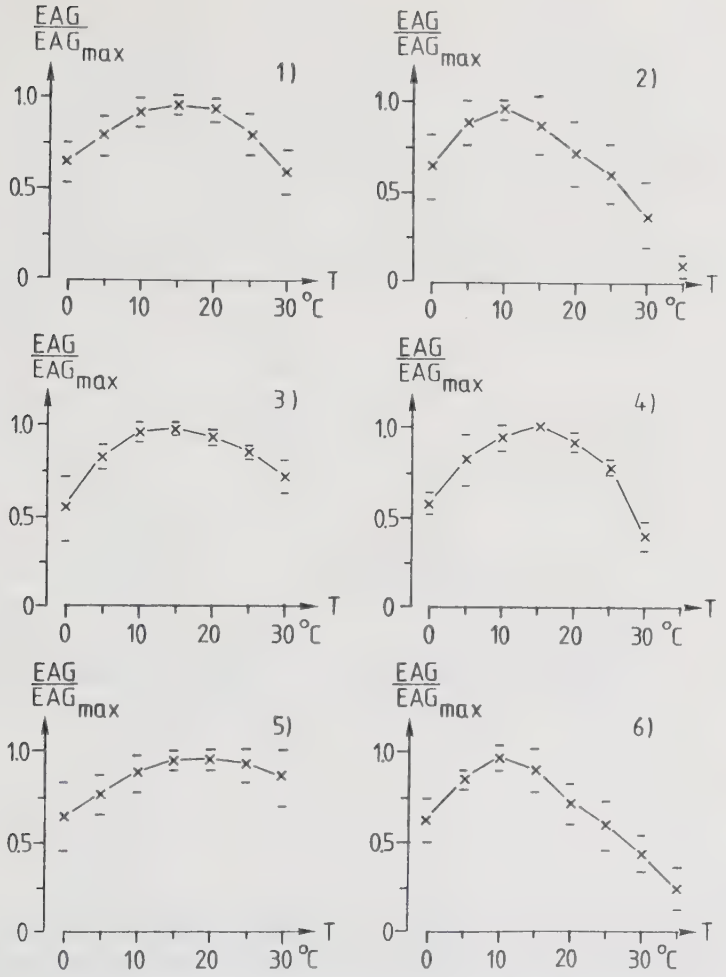

Abb. 16: EAG-Amplitude in Abhängigkeit von der Temperatur bei verschiedenen Lepidopterenarten. Dargestellt sind Mittelwerte mit Standardabweichung (vgl. Tab. 2). Reizdauer: 1s; Reizpause: 60s; 1) Agrotis segetum; 1.0 µg (Z)-5-Decenylacetat; 2) Antheraea pernyi; 0.1 µg (E)-6, (Z)-11-Hexadecadienal; Antheraea polyphemus; 3) 1.0 µg (E)-6,(Z)-11-Hexadecadienylacetat; 4) 0.1 µg (E)-6, (Z)-11-Hexadecadienal; 5) Mamestra brassicae: 10.0 µg (Z)-11-Hexadecenylacetat; 6) Manduca sexta: 0.1 µg (E)-10,(Z)-12-Hexadecadienal.

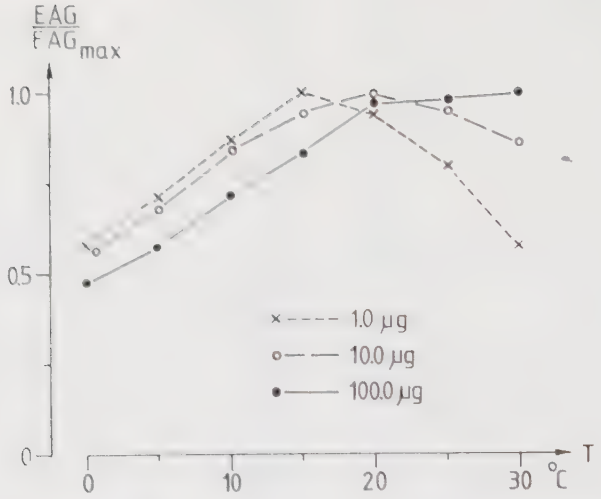

Abb. 17: Antetis segetum: EAG-Amplitude in Abhängigkeit von der Temperatur; Reizsubstanz: (Z)-5-Decenylacetat; Reizquellenbeladung: 1.0 µg, 10.0 µg, 100.0 µg; Reizdauer: 1s; Reizpause: 60s. Die Werte sind bei den verschiedenen Konzentrationen jeweils auf den Maximalwert normiert.

4.1.1.2. Alterung des Präparats

Mißt man bei konstanter Reizquellenbeladung mehrere Temperaturzyklen hintereinander, so kann es auch hier zu einer Verschiebung des Maximums zu höheren Temperaturen kommen (Abb. 18). Die Zyklen wurden 0, 20 und 60 min nach Versuchsanfang begonnen. Sie sind auf den jeweiligen Maximalwert in einem Temperaturzyklus normiert. Sind im Bereich zwischen 0 und 15°C die relativen Amplitudenwerte noch ähnlich, so verschieben sich mit zunehmender Meßdauer im oberen Temperaturbereich die Graphen nach rechts. Die Extremwert-Kurve wird "breiter".

Trotz der Abnahme der absoluten Werte mit zunehmender Meßdauer (siehe auch 4.1.1.4., Abb. 22) ändert sich bei konstanter Temperatur die Form der Kennlinie der relativen Werte nicht. Dies zeigen Messungen an Antheraea pernyi (Abb. 19). Hier wurden bei konstanter Temperatur, aber unterschiedlichem Alter des Präparats Kennlinien aufgenommen. Obwohl die Abnahme der gemessenen absoluten Werte mit zunehmender Meßdauer erheblich ist, bleiben die relativen Werte, auf den jeweiligen Maximalwert einer Kennlinie bezogen, im Rahmen der Meßungenauigkeit gleich.

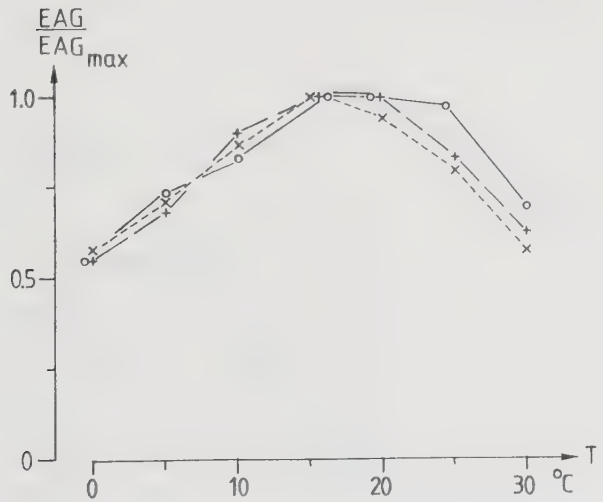

Abb. 18: Relative EAG-Amplituden in Abhängigkeit von der Temperatur; die Zyklen wurden 0(-x-), 20(-+-) und 60 min (-o-) nach Versuchsanfang begonnen; Agrotis segetum; Reizdauer: 1s; Reizpause: 60s; Reizquellenbeladung: 1.0 µg (Z)-5-Decenylacetat.

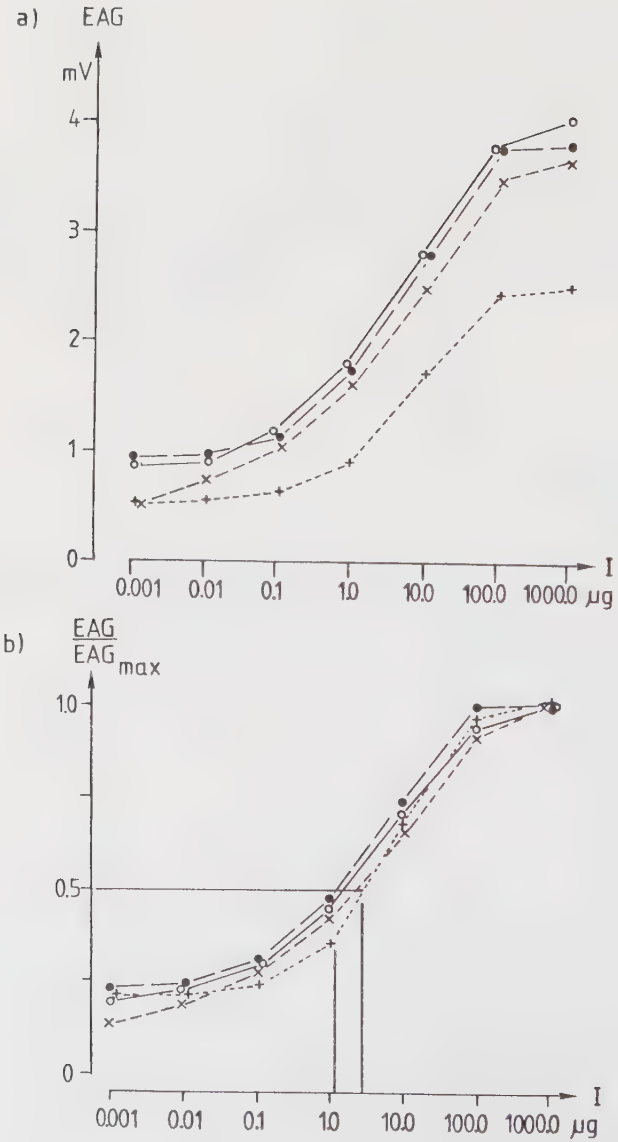

Abb. 19: Elektroantennogramm-Kennlinien bei Antheraea pernyi aufgenommen bei 15°C 15(-x-), 45(-o-), 75(-o-) und 120 min (-+-) nach Versuchsbeginn. In a) sind die gemessenen EAG-Amplitudenwerte aufgetragen, in b) die daraus berechneten relativen Werte und die graphische Bestim-

4.1.1.3. Optimumskurven bei stufenförmigem Temperaturprogramm

Während eines Meßzyklus wird die Temperatur stufenförmig geändert. Die Temperaturänderung um 5°C erfolgt in 5 s. Anschliessend bleibt diese für ein bestimmtes Zeitintervall konstant, in dem die Reizung erfolgt. So befindet sich das Präparat z.B. jeweils 40 s auf gleicher Temperatur, bevor der Reiz erfolgt. Auch hier bleibt, wie bei kontinuierlicher Temperaturänderung, die Reizquellenbeladung während eines Meßzyklus konstant.

Wie schon bei Messungen mit kontinuierlicher Temperaturänderung (Tab. 2, Abb. 16), so zeigen auch hier die EAG-Amplituden in Abhängigkeit von der Temperatur ein Maximum. Dies soll hier durch ein Meßergebnis bei Agrotis segetum veranschaulicht werden (Abb. 20).

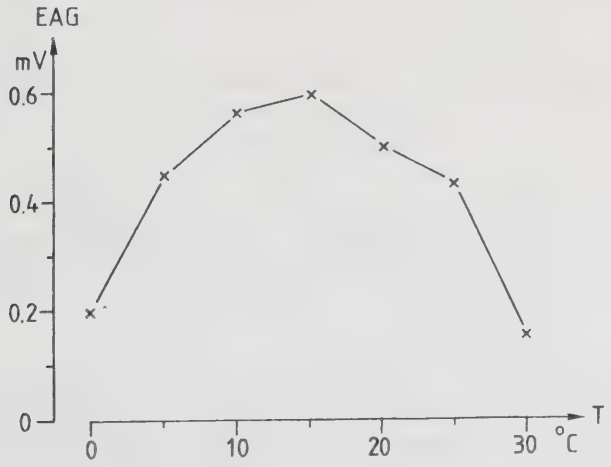

Abb. 20: EAG-Amplitude in Abhängigkeit von der Temperatur; Agrotis segetum; Reizquellenbeladung: 1.0 µg (Z)-5-Decenylacetat; Reizdauer: 1s; Reizpause: 60s.

4.1.1.4. Hysterese bei kontinuierlichem Temperaturprogramm

Analog zu Untersuchungen an anderen biologischen Systemen sollte nun an Hand von Temperaturzyklen festgestellt werden, ob sowohl das EAG als auch das ESG in Abhängigkeit von der Temperatur Hysterese zeigen.

Unter Hysterese soll hier eine unterschiedliche EAG-Antwort bei gleicher Temperatur, abhängig von der vorherigen Temperatur verstanden werden.
Um dies zu untersuchen, wurde die Temperatur im Bereich 0-30°C kontinuierlich erhöht und anschließend erniedrigt; das Präparat wurde in Schritten von 5°C gereizt. Dabei zeigt sich, daß die nach "warmer Vorgeschichte" (30°C) bei den verschiedenen Temperaturen aufgenommenen EAG-Amplitudenwerte größer sind als die nach niedriger Temperatur (0°C). Abb. 23 zeigt dies exemplarisch für das EAG, wobei hier darauf hinzuweisen ist, daß bei allen untersuchten Tieren Hysterese auftrat, auf die später näher eingegangen wird.
Zunächst sei auf das gewählte Temperaturprogramm eingegangen. Wie schon unter 4.1.1.2. angesprochen, nimmt die Empfindlichkeit des Präparats mit zunehmender Meßdauer ab, d.h. die EAG-Amplitudenwerte werden bei gleichbleibender Reizquantität kleiner (Abb. 22). Hier wurde bei konstanter Temperatur von 15°C bei einem Antennenpräparat 110 min lang alle 2 min gereizt. Die EAG-Amplituden sind bei einer Reizquellenbeladung von 1.0 µg (Z)-5-Decenylacetat nach einer Stunde auf ca. 50 % des Anfangswertes gefallen.
Wird ein Temperaturzyklus (z.B. 0°C - 30°C - 0°C) durchlaufen, so hat das Präparat auch hier am Ende eine niedrigere Empfindlichkeit als am Anfang. Dieser Alterungseffekt ist bei der Untersuchung, ob Hysterese auftritt, unbedingt zu berücksichtigen, denn die bei gleicher Temperatur zuerst gemessenen Werte liegen in der Regel über den später gemessenen. Beginnt man absteigend (30-0°C, oberer Hystereseast), so addieren sich die höhere Empfindlichkeit des Präparats am Anfang und der Hysterese-Effekt. Mißt man zuerst aufsteigend (0-30°C, unterer Hystereseast), so wird der anschließende Hysterese-

Effekt durch die Empfindlichkeitsabnahme geschmälert. Aus diesem Grund wurde die Richtung des Temperaturzyklus so gewählt, daß die zeitabhängige Empfindlichkeitsabnahme den meßbaren Hysterese-Effekt verringert (Beginn mit zunehmender Temperatur, unterer Hystereseast; Abb. 21).

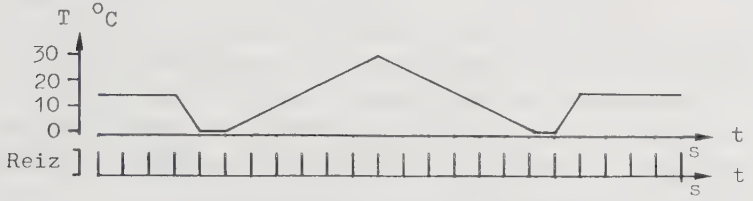

Abb. 21: Temperaturprogramm und Reizprogramm

Bei definierten Temperaturen wird ein Duftstoffreiz der Dauer 1 s gegeben. Der Reizabstand ändert sich während eines Meßdurchgangs nicht, dadurch wird eine gleichbleibende Reizquantität gewährleistet. Das Antennenpräparat wird an die Temperatur von 15°C adaptiert, dann auf 0°C abgekühlt, anschließend auf 30 bzw. 35°C erwärmt, um wieder auf 0°C abgekühlt zu werden. Dabei wird die Änderung bei zunehmender und abnehmender Temperatur mit 5°C s^{-1} gleich gehalten.
Mit diesem vorgestellten Temperaturprogramm wurden bei Agrotis segetum, Antheraea pernyi und Antheraea polyphemus Versuchsserien durchgeführt, deren Ergebnisse in Tab. 4 zusammengefaßt sind. Um einen besseren Vergleich der einzelnen Meßzyklen und Präparate zu ermöglichen, wurde folgende Normierung durchgeführt: Aus dem bei den einzelnen Meßzyklen für eine Temperatur bestimmten maximalen EAG-Amplitudenunterschied mit "kalter" und "warmer" Vorgeschichte wurde das Verhältnis der Amplituden mit abnehmender und der mit zunehmender Temperatur bestimmt. Ist dieser Quotient <1, so ist die Amplitude mit "kalter" Vorgeschichte größer als mit "warmer"; ist er >1, so ist der Wert mit abnehmender Temperatur größer. Die Empfindlichkeitsabnahme wurde aus den EAG-Werten bei 15°C vor und nach dem Temperaturzyklus bestimmt (konstante 15°C am Anfang und Ende des Temperaturprogramms in Abb. 21). Dabei wurde jeweils das Ein-

schwingverhalten auf die konstante Temperatur von 15°C abgewartet. Die in der Tabelle aufgeführten Werte sagen aus, wie groß die EAG-Amplitude nach dem Temperaturzyklus ist, bezogen auf die vor dem Meßbeginn. Obwohl die Amplitudenabnahme pro Meßzyklus ca. 20 % beträgt, wird der Effekt der Hysterese deutlich.
Abb. 23 zeigt EAG-Amplituden, die von einem Antennenseitenast abgeleitet wurden. Obgleich die mit -o- gekennzeichneten Werte zu einem späteren Zeitpunkt aufgenommen wurden, liegen sie über denen, die bei zunehmender Temperatur -x- gemessen wurden. Hysterese tritt also auch dann noch auf, wenn anstelle einer ganzen Antenne nur ein Seitenast verwendet wird.
Der Hysterese-Effekt klingt mit der Zeit ab. Dies läßt sich bei stufenförmigem Temperaturprogramm und Messungen nach verschiedenen Zeiten feststellen. Dazu wurden durch repetitive Reizung bei konstanter Temperatur, aber unterschiedlicher Vortemperatur, die EAG-Amplituden aufgenommen. Die Abb. 24 zeigt das Verhalten der EAG-Amplituden nach stufenartiger Temperaturänderung von 0 auf 15°C und von 30 auf 15°C bei dem konstanten Wert von 15°C. Dazu wurden bei dieser Temperatur mehrere Reize in einem Abstand von 60 s gegeben, bis sich die EAG-Amplitude auf eine gleichbleibende Höhe eingestellt hatte. Die bei 0 und 30°C gemessenen Werte sind hier nicht aufgetragen, aber auch bei diesen Temperaturen wurde alle 60 s gereizt; der Reizabstand war also während der gesamten Versuchsdauer konstant. Nach der Temperatur von 0°C nähern sich die EAG-Amplituden nach ca. 4 min einem bleibenden Wert; nach 30°C kommt es zu einer deutlich höheren EAG-Amplitude, die dann wieder kontinuierlich abnimmt. Der Effekt der Hysterese ist zeitlich begrenzt; nach ca. 6 min ist er nicht mehr sichtbar. Offensichtlich handelt es sich um Hysterese, die, beruhend auf kurzlebigen metastabilen Zuständen, in einem biologischen System zeitabhängig sein sollte (Neumann 1973).

Der Effekt der Hysterese ist nicht an die Reizquantität gebunden. Dies zeigt beispielhaft eine Messung an Antheraea pernyi für drei verschiedene Reizstärken (Abb. 25). Schon

bei der geringen Reizquellenbeladung von 0.001 µg (E)-6, (Z)-11-Hexadecadienal kann Hysterese festgestellt werden. Der maximale Unterschied der EAG-Amplitude variiert mit der Reizquantität, aber selbst der kleinste maximale Unterschied liegt mit 0.3 mV noch über der Nachweisgrenze, die durch die Apparatur vorgegeben ist (siehe 3.2.4., S. 20).
Vor allem bei hohen Reizquellenbeladungen konnte, wie schon unter 4.1.1.1. dargestellt, eine Veränderung des Kurvenverlaufs festgestellt werden. Nimmt die Reizquantität zu, so geht für Meßpunkte bei zunehmender Temperatur die Optimumskurve in eine Sättigungskurve über. Diese wird jedoch von der bei abnehmender Temperatur gemessenen Kurve überschritten (Abb. 26). Der Hysterese-Effekt ist also auch bei hohen Reizquellenbeladungen vorhanden.

Nicht nur die Reizquantität, sondern auch die Länge der Pause zwischen den einzelnen Reizen ("Reizabstand") beeinflußt den Verlauf der Hysterese. Die Abb. 27 zeigt dies bei Agrotis segetum. Die Kurven stammen von dem selben Präparat. Es wurde zuerst mit einem Reizabstand von 80 s, dann von 120 s gemessen. Der letzte Meßdurchgang wurde bei einem Reizabstand von 40 s aufgenommen. Der erste Meßdurchgang zeigt deutliche Hysterese; wird der Reizabstand auf 120 s vergrößert, so schneiden sich die beiden Kurvenäste; wird der Reizabstand wieder verkleinert, kommt es nicht mehr zur Überschneidung im oberen Temperaturbereich. Abb. 28 zeigt dasselbe Ergebnis bei Antheraea pernyi und den Reizabständen in der Reihenfolge: 25, 50, 75 und 25 s.

Der Verlauf der temperaturabhängigen Elektroantennogramme ist auch von der Reizsubstanz abhängig, was Untersuchungen an Manduca sexta zeigen (Abb. 29). Während beim Hexadecadienal der Kurvenast bei abnehmender Temperatur zu tiefen Temperaturen hin verschoben scheint, ist beim Pentadecadienal ein deutlich höher liegendes Maximum bei abnehmender Temperatur festzustellen. Bei diesen Messungen waren die Reizquellenbeladung, das Temperaturprogramm und die Reizabstände für beide Substanzen gleich, so daß die unterschiedlichen Ergebnisse nur auf die Kettenlängen-Unterschiede der Testsubstanzen zurückgeführt werden können.

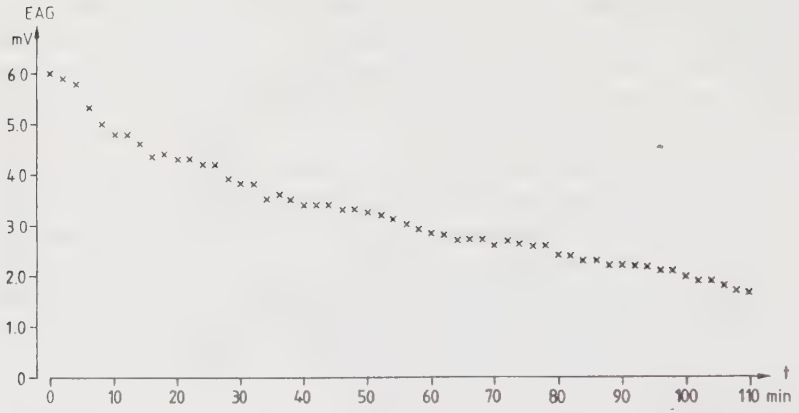

Abb. 22: EAG-Amplitude bei konstanter Temperatur von 15°C, abhängig von der Meßdauer; Agrotis segetum; Reizdauer: 1s; Reizpause: 120s; Reizquellenbeladung: 1.0 µg (Z)-5-Decenylacetat.

Schmetterlingsart	n	rel. EAG-Amplitude mit Standardabweichung	rel. EAG-Amplitude nach dem Temperaturzyklus
Agrotis segetum	18	1.12 ± 0.19	0.83 ± 0.12
Antheraea pernyi	11	1.16 ± 0.38	0.71 ± 0.09
Antheraea polyphemus	9	1.28 ± 0.13	0.79 ± 0.12

Tab. 3: Mittelwerte und Standardabweichung der EAG-Amplituden, bezogen auf den Meßpunkt mit zunehmender Temperatur und die dazugehörigen Amplituden nach dem Temperaturzyklus, bezogen auf den 15°C-EAG-Wert zu Beginn. Die weitere Erklärung dieser Tabelle erfolgt im Text.

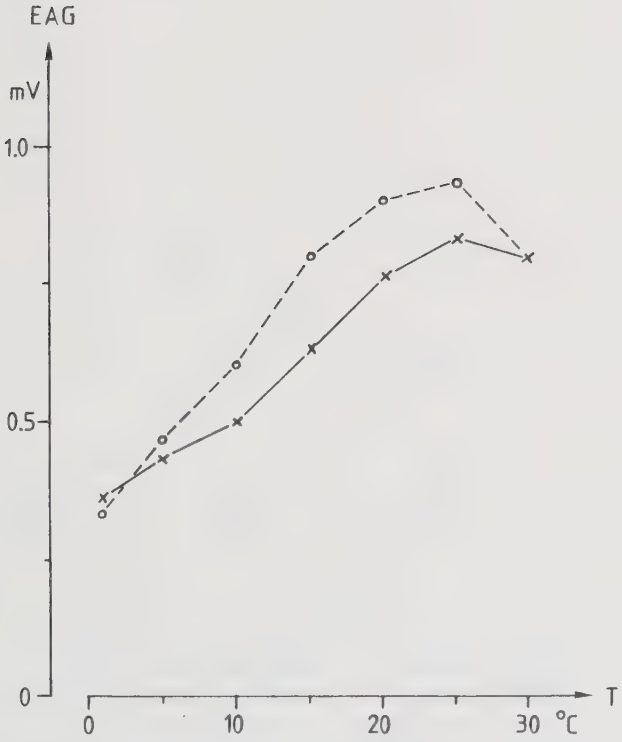

Abb. 23: Temperaturabhängigkeit der Elektroantennogramm-Amplitude, gemessen an einem Seitenast von Antheraea polyphemus. Die mit -x- dargestellten EAG-Amplituden bezeichnen Meßpunkte mit zunehmender Temperatur, die mit -o- Meßpunkte mit abnehmender Temperatur. Reizquellenbeladung: 10 µg (E)-6,(Z)-11-Hexadecadienal; Reizdauer: 1s; Reizpause: 60s.

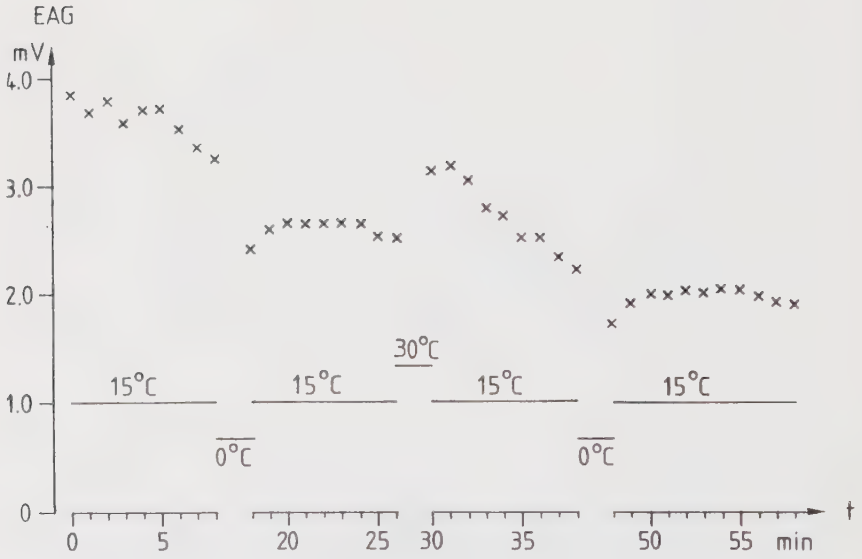

Abb. 24: Einschwingverhalten der EAG-Amplituden nach einem Temperatursprung von 0 auf 15°C bzw. von 30 auf 15°C, gemessen an Agrotis segetum. Reizdauer: 1s; Reizquellenbeladung: 1.0 µg (Z)-5-Decenylacetat.

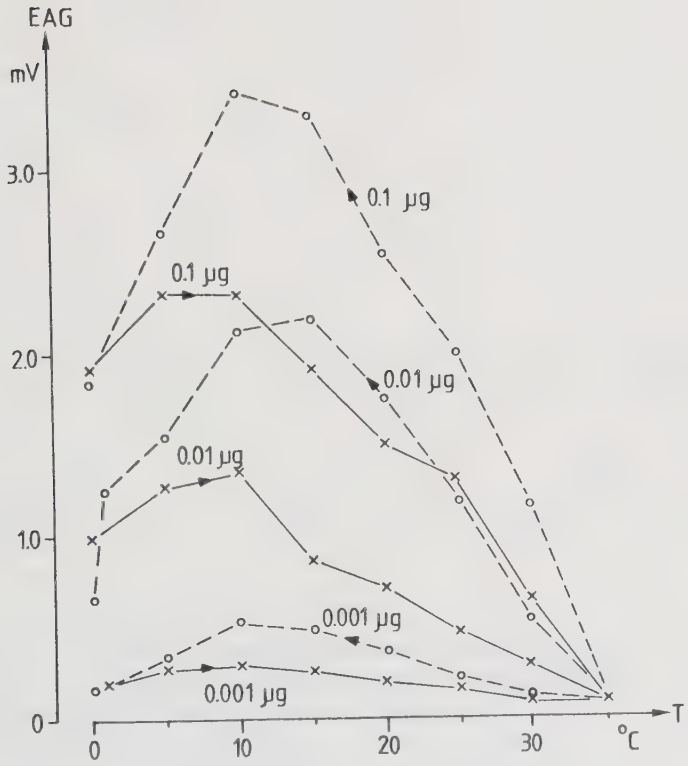

Abb. 25: Temperaturabhängigkeit der Elektroantennogramm-Amplitude, gemessen an Antheraea pernyi. Die mit -x- gekennzeichneten EAG-Amplituden bezeichnen Meßpunkte mit zunehmender Temperatur, die mit -o- gekennzeichneten Meßpunkte mit abnehmender Temperatur. Reizquellenbeladung in der Reihenfolge: 0.001, 0.01, 0.1 µg (E)-6,(Z)-11-Hexadecadienal; Reizdauer: 1s; Reizpause: 60s.

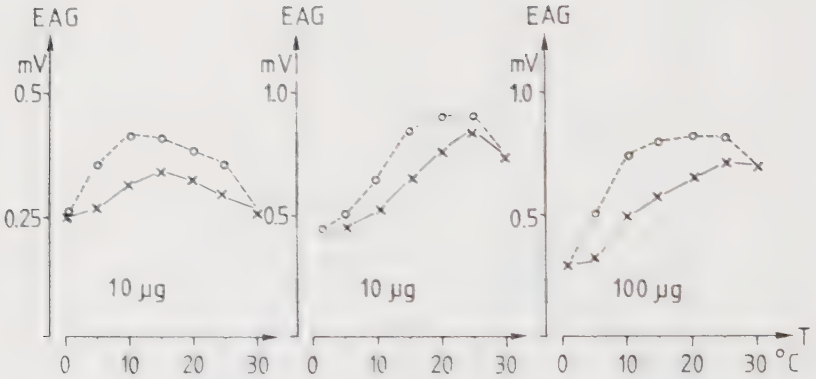

Abb. 26: Temperaturabhängigkeit der Elektroantennogramm-Amplituden bei verschiedenen Duftstoffkonzentrationen, gemessen an Antheraea polyphemus. Die mit -x- gekennzeichneten EAG-Amplitudenwerte bezeichnen Meßpunkte mit zunehmender Temperatur, die mit -o- gekennzeichneten Meßpunkte mit abnehmender Temperatur. Reizquellenbeladung: 1.0, 10, 100 µg (E)-6,(Z)-11-Hexadecadienal; Reizdauer: 1s; Reizpause: 60s.

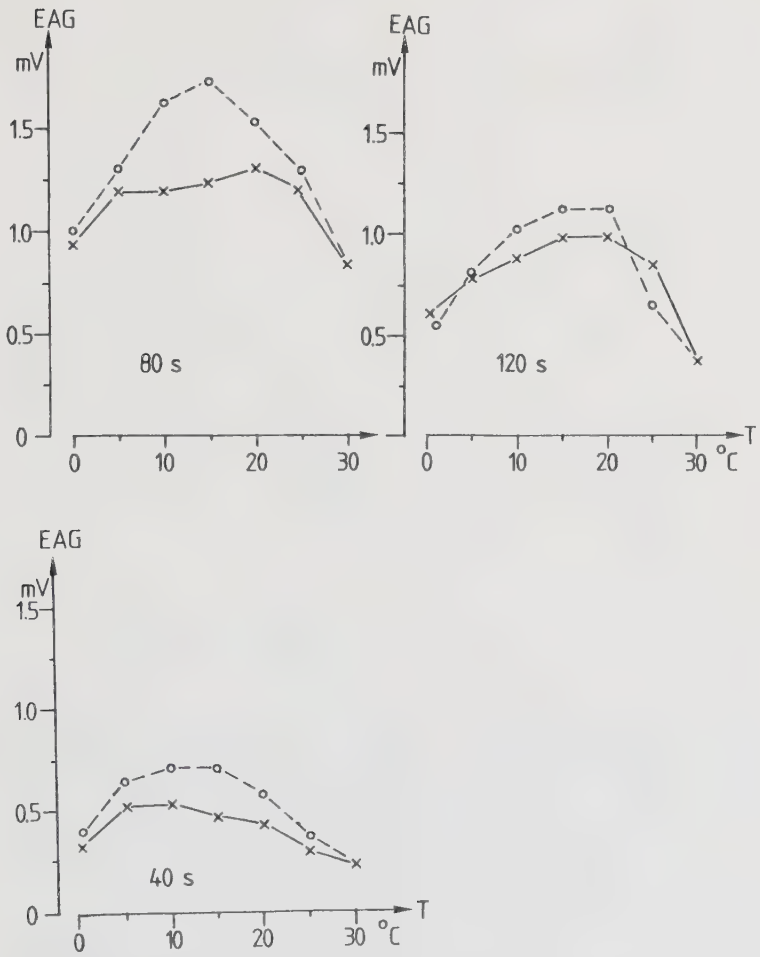

Abb. 27: Temperaturabhängigkeit der EAG-Amplituden bei verschieden langen Reizpausen, gemessen an einem Präparat von Agrotis segetum. Die mit -x- gekennzeichneten EAG-Amplitudenwerte bezeichnen Meßwerte mit zunehmender Temperatur, die mit -o- gekennzeichneten mit abnehmender Temperatur. Reizquellenbeladung: 1.0 µg (Z)-5-Decenylacetat; Reizdauer: 1s; Reizpausen: 80s, 120s, 40 s.

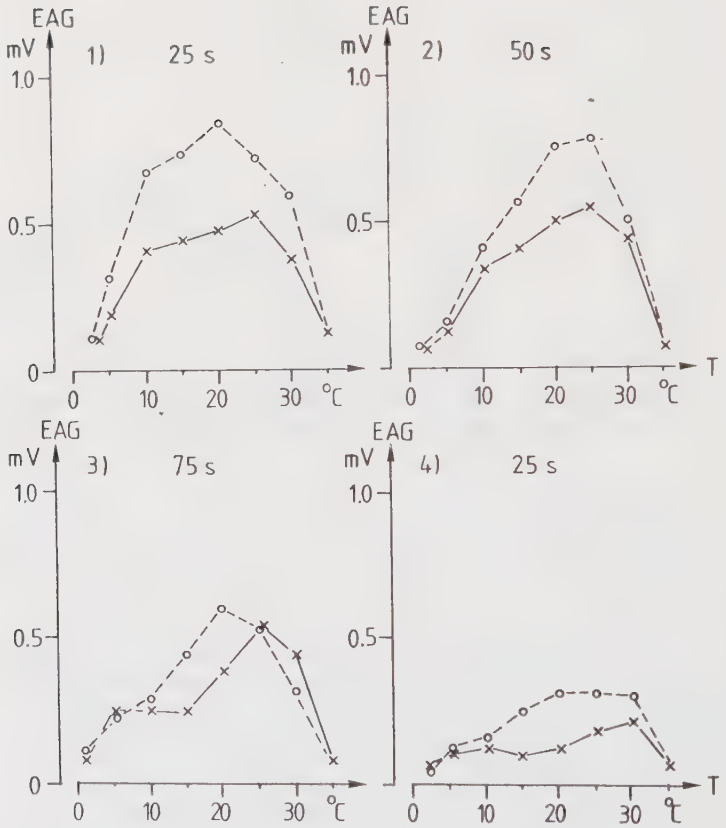

Abb. 28: Temperaturabhängigkeit der EAG-Amplituden bei verschieden langen Reizpausen, gemessen an Antheraea pernyi. Die mit -x- gekennzeichneten Werte sind mit zunehmender Temperatur, die mit -o- gekennzeichneten Werte mit abnehmender Temperatur aufgenommen. Reizquellenbeladung: 0.001 µg (E)-6,(Z)-11-Hexadecadienal; Reizdauer: 1s; Reizpausen: 25, 50, 75, 25s.

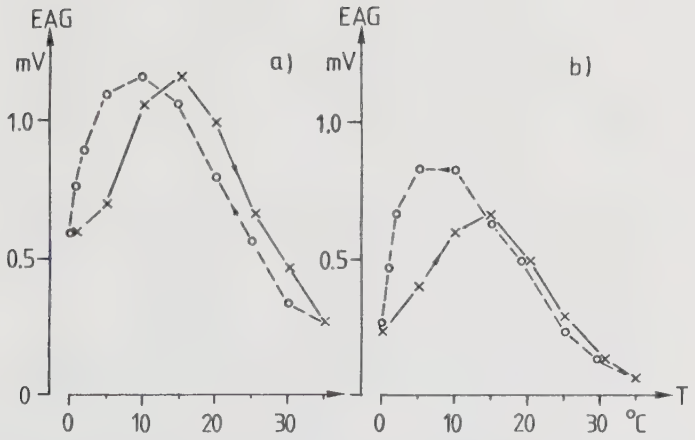

Abb. 29: Temperaturabhängigkeiten der EAG-Amplituden bei verschiedenen Reizsubstanzen, gemessen an Manduca sexta. Die mit -x- gekennzeichneten Werte sind mit zunehmender, die mit -o- gekennzeichneten Werte mit abnehmender Temperatur gemessen. Reizquellenbeladungen: 1.0 µg (E)-10,(Z)-12-Hexadecadienal (a); 1.0 µg (E)-10,(Z)-12-Pentadecadienal (b); Reizdauer: 1s; Reizpause: 60s.

4.1.1.5. Hysterese bei stufenförmigem Temperaturprogramm

Der bisher behandelte Hysterese-Effekt, der bei kontinuierlicher Temperaturänderung festgestellt wurde, könnte teilweise durch ein Nachhinken der Temperatur am Präparat hervorgerufen werden. Um diesen Einfluß auszuschließen, wurde bei den folgenden Versuchen ein stufenförmiges Temperaturprogramm gewählt. Das Präparat hatte nach einem Temperatursprung, der innerhalb von 20 s erfolgte, eine gewisse Zeit, sich auf die neue Temperatur einzustellen. Erst dann wurde gereizt, wobei der Reizabstand und die Reizquellenbeladung innerhalb einer Versuchsserie konstant gehalten wurden. Das Präparat wurde vor dem Reiz 180 s lang der jeweiligen Temperatur ausgesetzt.

Abb. 30 zeigt Mittelwerte aus vier Meßdurchgängen. Die durchschnittliche Amplitudenabnahme pro Temperaturzyklus betrug 18 %. Auch bei diesem Temperaturprogramm zeigt sich Hysterese im bereits oben beschriebenen Sinn. Diese ist also nicht an kontinuierliche Temperaturänderung gebunden.
Das Temperaturprogramm läßt sich noch weiter vereinfachen. Es werden die EAG-Amplituden-Werte bei 15°C, 0°C, 15°C, 30°C und 15°C aufgenommen. Wie schon bei den vorangegangenen Versuchen, so hat auch hier das Präparat 180 s Zeit, sich auf eine konstante Temperatur einzustellen. Betrachtet man nun die bei 15°C gemessenen EAG-Amplituden, so zeigt sich, daß diese nach höherer Temperatur um 17 % größer sind, als die nach tiefer, obwohl sie später gemessen wurden (Abb. 31). Die alterungsbedingte Amplitudenabnahme pro dargestelltem Meßprogramm betrug im Mittel 12 %.
Trotz der langen Adaptationszeit für eine bestimmte Temperatur bleibt der Effekt der Hysterese sichtbar.

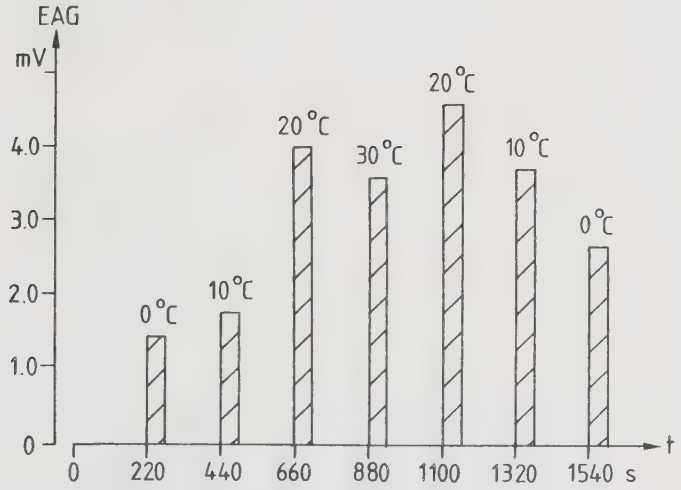

Abb. 30: Temperaturabhängigkeit der EAG-Amplituden bei stufenartiger Temperaturänderung, gemessen an Agrotis segetum. Reizquellenbeladung: 1.0 µg (Z)-5-Decenylacetat; Reizdauer: 1s; Reizabstand: 220s. Das Säulendiagramm stellt Mittelwerte aus vier Meßzyklen dar.

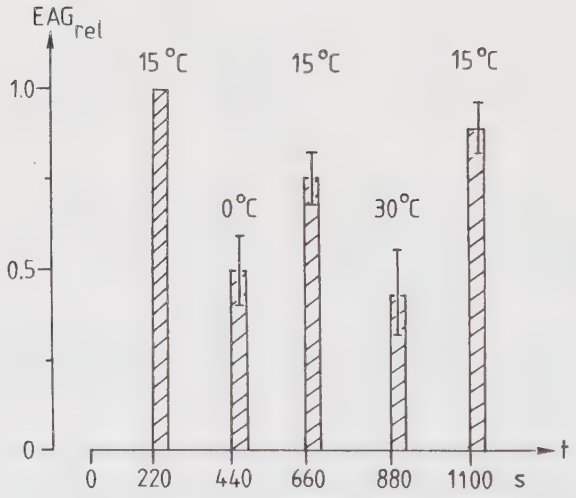

Abb. 31: Temperaturabhängigkeit der EAG-Amplituden bei stufenartiger Temperaturänderung, gemessen an Anthereaea polyphemus. Dargestellt sind Mittelwerte mit Standardabweichung von jeweils 17 Meßpunkten. Reizquellenbeladung: 1.0 µg (E)-6,(Z)-11-Hexadecadienylacetat; Reizdauer: 1s; Reizpause: 220s.

4.1.2. Temperaturabhängigkeit des EAG-Verlaufs

Neben der Amplitude ist auch der Zeitverlauf des Elektroantennogramms temperaturabhängig. Zur Charakterisierung werden folgende Zeiten definiert (Abb. 32): $\tau/2$ bezeichnet die Halbwertsbreite des EAG, $\tau/2\downarrow$ deren Anteil für den Abfall und $\tau/2\uparrow$ den für den Anstieg.

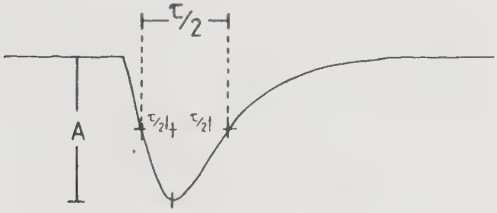

Abb. 32: EAG mit den für den Verlauf verwendeten Bezeichnungen.

Mit zunehmender Temperatur nimmt die Dauer des Elektroantennogramms ab, was durch die Abhängigkeit der Halbwertsbreite $\tau/2$ veranschaulicht wird (Abb. 33). Das Maximum der Elektroantennogramm-Amplitude ist nicht mit einer längeren EAG-Dauer bei dieser Temperatur korreliert, denn weder die Abfall- noch die Anstiegsphase haben dort ein Maximum (Abb. 34). Betrachtet man den Beitrag der einzelnen Phasen, so wird deutlich, daß vor allem die Zeit für den Anstieg die kürzeren Halbwertsbreiten bei höheren Temperaturen bewirkt; ein Einfluß der Abfallphase ist im Rahmen der Ableseungenauigkeit nicht feststellbar. Bildet man den Quotienten aus Amplitude und Abfall- bzw. Anstiegsdauer des EAG, so ergibt sich ein Optimum bei 15°C (Abb. 35). Der Quotient kann als Maß für die Geschwindigkeit der Potentialänderung angesehen werden. Diese durchläuft ebenso wie die Amplitude ein Maximum bei 15°C.
Auch mit stufenförmigem Temperaturprogramm (vgl. 4.1.1.3., S. 29) konnten diese Ergebnisse bestätigt werden.

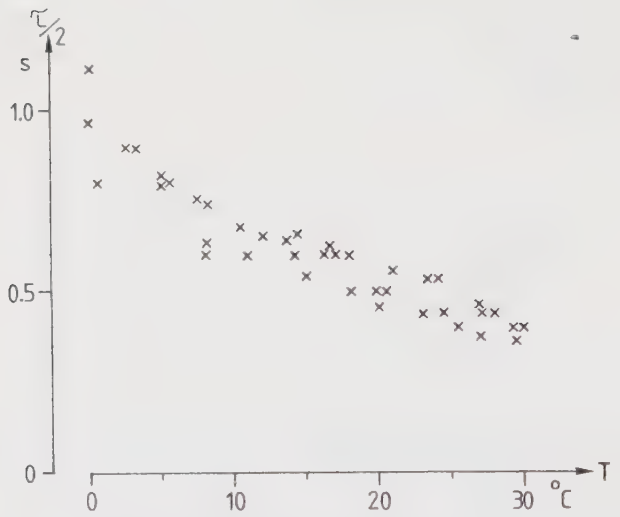

Abb. 33: Abhängigkeit der EAG-Halbwertsbreite $\tau/2$ von der Temperatur, gemessen an Agrotis segetum; Reizdauer: 1.0 s; Reizpause: 60 s; Reizquellenbeladung: 1.0 µg (Z)-5-Decenylacetat. Es wurden mehrere Temperaturzyklen durchlaufen.

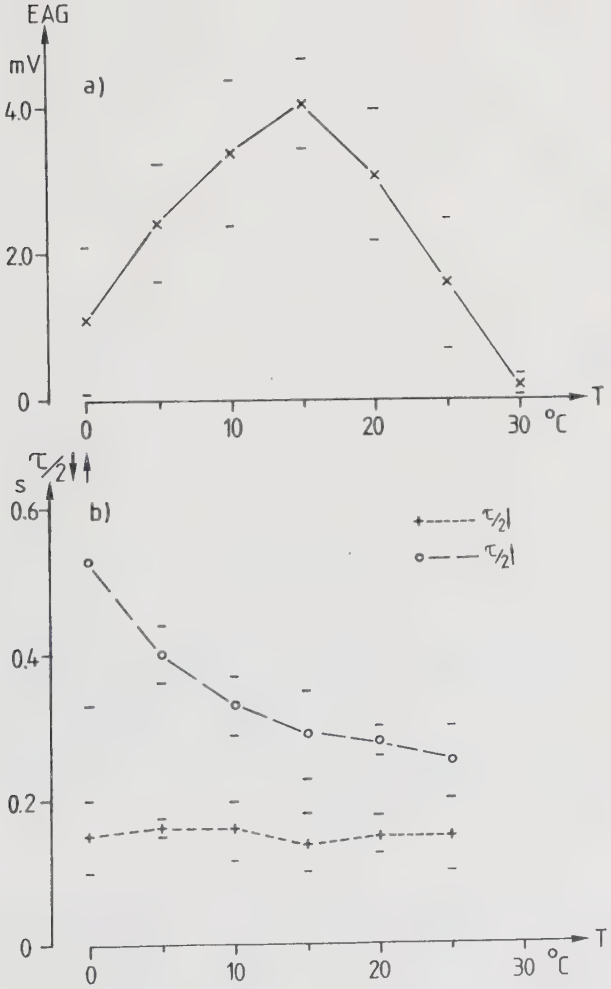

Abb. 34: a) EAG-Amplitude, b) Zeiten für den Abfall (-+-) und den Anstieg (-o-) des Elektroantennogramms, gemessen an Agrotis segetum; Reizdauer: 1s; Reizpause: 60s; Reizquellenbeladung: 1.0 µg (Z)-5-Decenylacetat. Die dargestellten Punkte sind Mittelwerte mit Standardabweichung aus jeweils fünf Meßwerten.

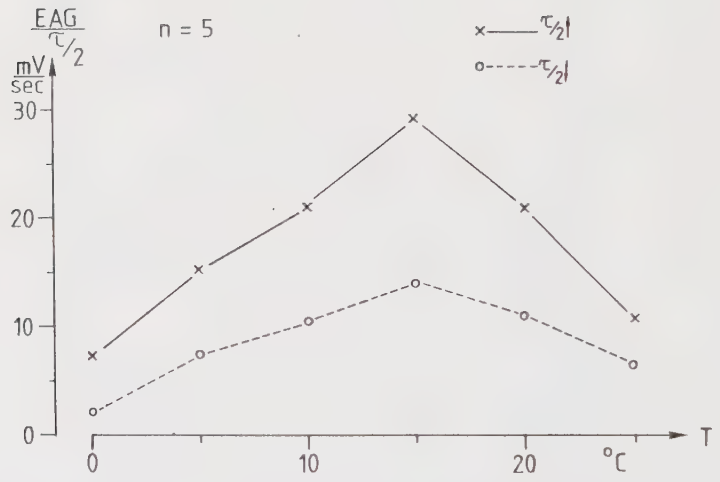

Abb. 35: EAG/τ/2! (x) und EAG/τ/2! (o) in Abhängigkeit von der Temperatur, gemessen an Agrotis segetum; Reizdauer: 1s; Reizpause: 60s; Reizquellenbeladung: 1.0 µg (Z)-5-Decenylacetat; "n" bezeichnet die Anzahl der gemittelten Meßpunkte.

4.2. Elektrosensillogrammableitung (ESG)

Die bisher angewendete Methode der EAG-Messung stellt eine Aufsummierung der parallel ablaufenden Prozesse vieler Sensillen der Antenne dar. Um Rückschlüsse auf molekulare Vorgänge ziehen zu können, wurde im Folgenden an einzelnen Sensillen abgeleitet. Dazu wurde die Reizgebung, wie bereits beschrieben, geändert (vgl. 3.2.3., S. 18 und Abb. 13). Diese Methode hat den Vorteil, daß die Reizdauer einfach und schnell variiert werden kann und man erhält bei konstanter Temperatur und repetitiver Reizung gut reproduzierbare Ergebnisse in Bezug auf das Rezeptorpotential und das Aktionspotentialmuster (Abb. 36). Es fällt auf, daß hier das Rezeptorpotential und die Aktionspotentiale unterschiedliche Polarität zeigen, obgleich in der Rezeptorzelle beide in depolarisierender Richtung verlaufen. Bei der Reizung mit Pheromon kommt es durch erhöhte Membranleitfähigkeit am Dendriten zum Rezeptorpotential in depolarisierender Richtung, die dadurch induzierten Aktionspotentiale weisen jedoch in die entgegengesetzte Richtung. Dieser Effekt ist wahrscheinlich durch die spezielle Ableittechnik und durch den unterschiedlichen Entstehungsort von Rezeptorpotential und Aktionspotentialen bedingt. Eine weiterführende Erörterung findet in der Diskussion statt.

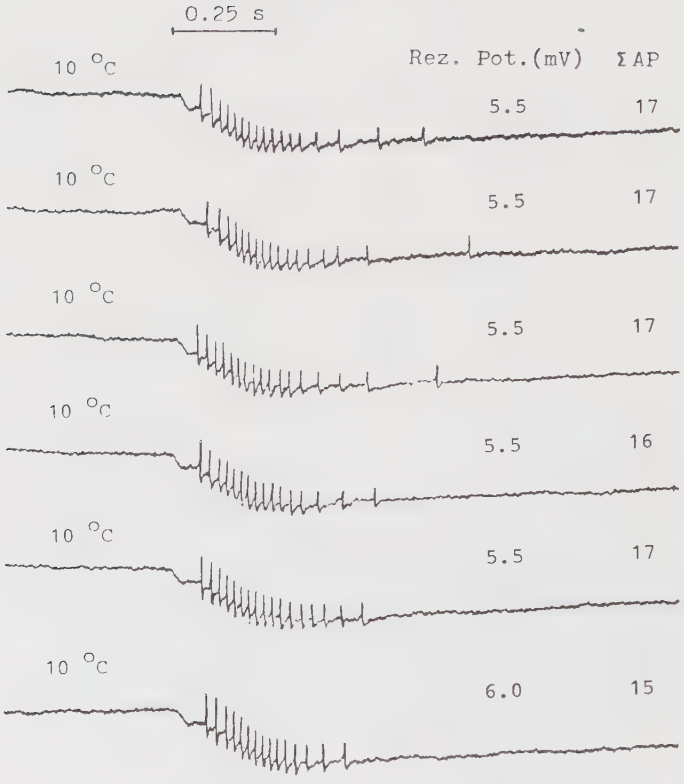

Abb. 36: Elektrosensillogramm bei konstanter Temperatur von 10°C, gemessen an Antheraea pernyi. Die Zahlenwerte bedeuten die Rezeptorpotential-Amplitude (Rez.Pot.) und die Anzahl der Aktionspotentiale (ΣAP) auf den Reiz; Reizpause: 90s. Der Querbalken entspricht der Reizdauer von 0.25s; Reizquellenbeladung: 10 µg (E)-6,(Z)-11-Hexadecadienal.

4.2.1. Temperaturabhängigkeit des Rezeptorpotentials

Zur Beschreibung des Rezeptorpotentials werden folgende Größen verwendet (Abb. 37).

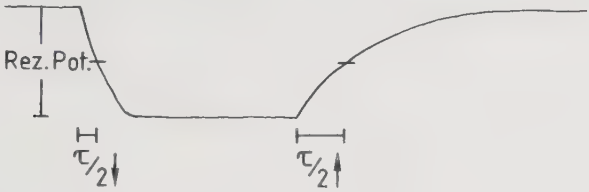

Abb. 37: Definition der Bezeichnungen für die Beschreibung der Rezeptorpotentialform.

Rez.Pot. bezeichnet die maximale "Höhe" des Rezeptorpotentials, $\tau/2\downarrow$ die Zeit bis zum halbmaximalen Wert der Depolarisation, $\tau/2\uparrow$ die der Repolarisation.
Bei langer Reizdauer, im Beispiel der Abb. 38 beträgt sie 10 s, nimmt die Amplitude des Rezeptorpotentials mit zunehmender Temperatur ab. Es läßt sich ein nahezu linearer Abfall im Temperaturbereich 0 - 25°C feststellen (Abb. 38a). Die Zeiten für die Depolarisation und die Repolarisation werden mit höheren Temperaturen kürzer; es resultiert ein asymptotischer Kurvenverlauf (Abb. 38b).
Im Folgenden wurden für den Temperaturbereich von 0 - 25°C die Rezeptorpotentiale bei verschiedenen Reizdauern (0.25, 0.5, 1.0, 5.0 und 10 s) aufgenommen. Dabei findet man bei kurzer Reizzeit (z.B. 0.25 s) eine Optimumskurve, die bei Übergang zu längeren Reizen in eine zu hohen Temperaturen hin einseitig abfallende Kurve ohne Maximum übergeht (Abb. 39).
Mißt man in dem 10 s-Meßdurchgang die Rezeptorpotential-Amplitude, die sich 0.5, 1.0 oder 2.0 s nach Reizbeginn eingestellt hat, so zeigt sie für kurze Reizdauern ein deutliches Maximum (Abb. 40).

Um diesen Effekt, der bei kurzer Reizzeit und niedriger Temperatur zu beobachten war, mit einem anderen Meßprogramm zu bestätigen, wurde im Folgenden die Abhängigkeit der relativen Rezeptorpotential-Amplitude von der Reizdauer bei den ausgewählten niedrigen Temperaturen von 0 und 10°C bestimmt (Abb. 41). In diesem Experiment erreicht die Amplitude bei 10°C ihren Maximalwert bei der Reizzeit von 1 s, bei 0°C erst nach 5 s.

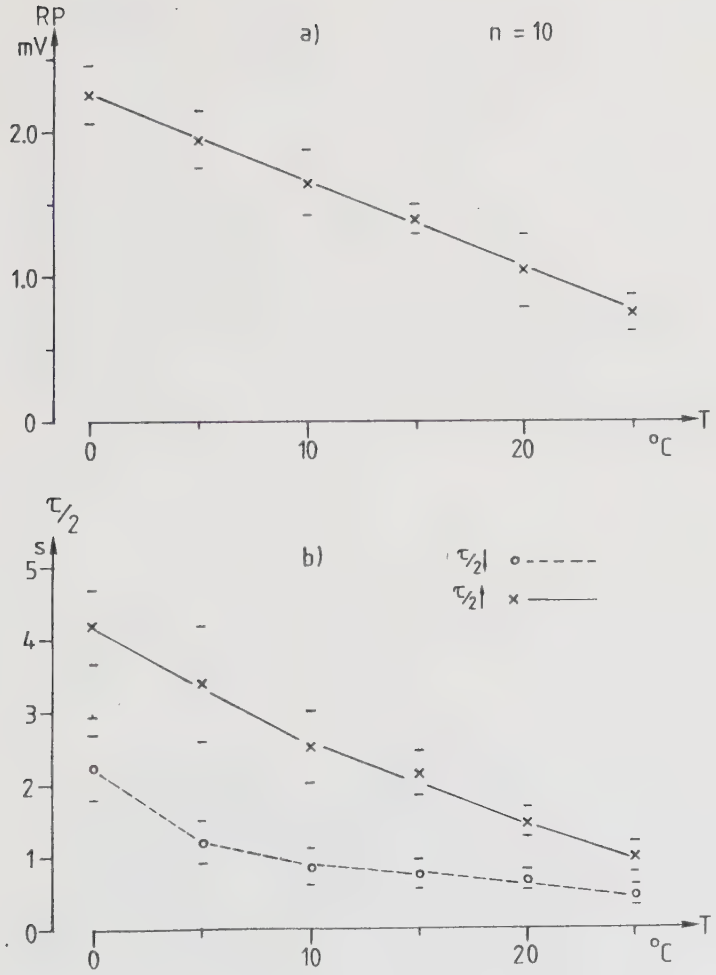

Abb. 38: Temperaturabhängigkeit a) der Amplitude des Rezeptorpotentials (Rez.Pot.) und b) der Halbwertszeit für die Depolarisation (-o-) und der Repolarisation (-x-), gemessen an Antheraea pernyi. Reizdauer: 10s; Reizpause: 90s; Reizquellenbeladung: 1.0 µg (E)-6,(Z)-11-Hexadecadienal. Mittelwerte aus n Versuchen mit Standardabweichung.

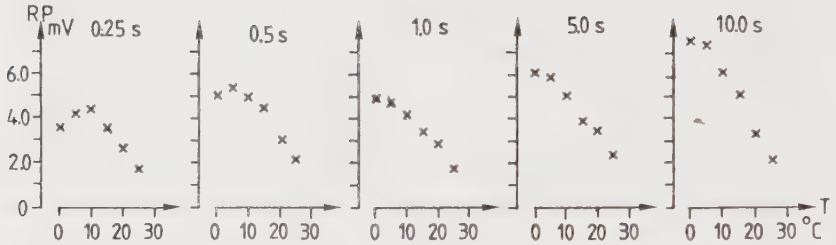

Abb. 39: Temperaturabhängigkeit der Rezeptorpotential-Amplitude (Rez.Pot.) bei verschiedenen Reizdauern, gemessen an Antheraea pernyi. Reizdauer: 0.25 - 10 s; Reizpause: 90 s; Reizquellenbeladung: 1 µg (E)-6,(Z)-11-Hexadecadienal.

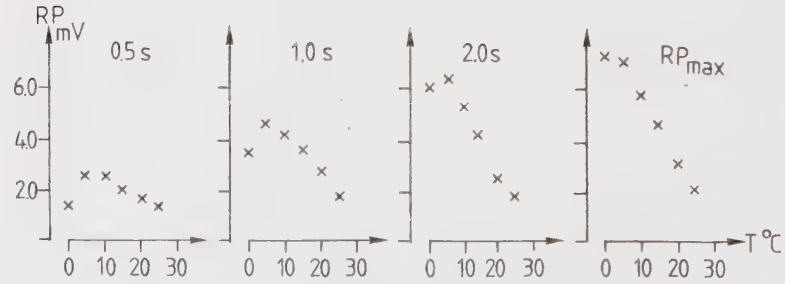

Abb. 40: Temperaturabhängigkeit des Rezeptorpotentials (Rez. Pot.), abgelesen 0.5, 1.0 und 2.0 s nach Reizbeginn. Das rechte Diagramm zeigt das maximale Rezeptorpotential ($Rez.Pot._{max}$), das bei den verschiedenen Temperaturen bei der Reizquellenbeladung mit 1.0 µg (E)-6, (Z)-11-Hexadecadienal erreicht werden kann. Reizpause: 90 s; gemessen an Antheraea pernyi.

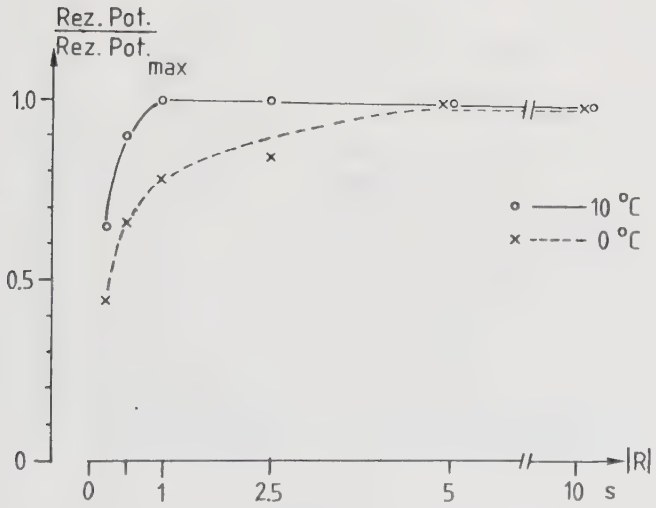

Abb. 41: Auf den maximalen Rezeptorpotential-Wert normierte Rezeptorpotential-Amplituden (Rez.Pot./Rez.Pot.$_{max}$) in Abhängigkeit von der Reizdauer (|R|) bei 0°C und 10°C, gemessen an Antheraea pernyi. Reizquellenbeladung: 1.0 µg (E)-6,(Z)-11-Hexadecadienal.

4.2.2. Hysterese

Der Effekt der Hysterese, der bereits unter 4.1.1.4. und 4.1.1.5. beim Elektroantennogramm (EAG) gefunden wurde, konnte beim Elektrosensillogramm (ESG) sowohl beim Rezeptorpotential als auch bei der Anzahl der Aktionspotentiale gefunden werden.

4.2.2.1. Kontinuierliche Temperaturänderung

Die Temperatur wurde im Bereich von 0 - 30°C kontinuierlich erhöht und anschließend erniedrigt. Nach einer Temperaturänderung von jeweils 5°C wurde ein durch Pheromonreiz ausgelöstes ESG aufgenommen. Zuerst wurde jeweils die Anzahl der Aktionspotentiale bei zunehmender Temperatur ermittelt; die anschließend bei abnehmender Temperatur gemessene übersteigt diese deutlich (Abb. 42). Das Rezeptorpotential wurde in diesem Fall nicht ausgewertet, da bei der geringen Reizquellenbeladung von 0.1 µg (E)-6,(Z)-11-Hexadecadienal die Rezeptorpotential-Amplitude sehr klein und damit die Änderung für verschiedene Temperaturen nicht auswertbar ist.

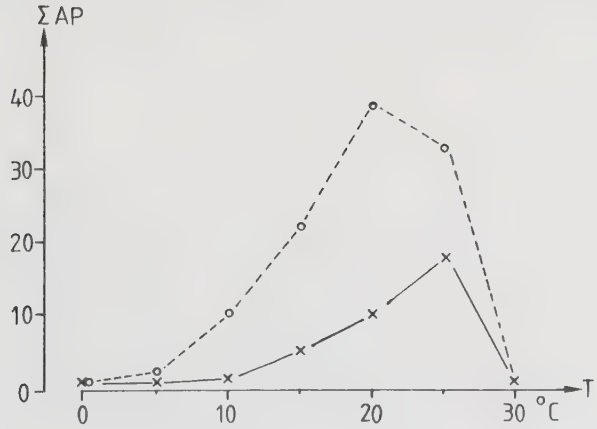

Abb. 42: Temperaturabhängigkeit der Anzahl der Aktionspotentiale (Σ AP) bei Antheraea pernyi. -x- bezeichnet Werte, die zuerst bei zunehmender Temperatur, -o- anschließend bei abnehmender Temperatur aufgenommen wurden. Reizdauer: 10s; Reizpause: 90s; Reizquellenbeladung: 0.1 µg (E)-6,(Z)-11-Hexadecadienal.

4.2.2.2. Stufenartige Temperaturänderung

In Analogie zu den EAG-Messungen (vgl. 4.1.1.5.) wurden auch an einzelnen Sensillen das Rezeptorpotential und die Anzahl der Aktionspotentiale nach stufenförmiger Temperaturänderung gemessen. Zunächst wurde das Präparat an 10°C adaptiert, dann die Temperatur auf 0°C, 10°C, 20°C und wieder auf 10°C eingestellt und jeweils mit Pheromon gereizt. Ein Vergleich der bei 10°C gemessenen Rezeptorpotentiale und Aktionspotential-Anzahl zeigt deutlich höhere Werte für die Messungen, die nach höherer Temperatur (20°C) durchgeführt wurden (Abb. 43).
Die Hysterese ist also bei stufenartiger Temperaturänderung ebenso feststellbar.
Dieser Effekt bleibt auch dann noch erhalten, wenn der Temperaturzyklus mehrmals hintereinander durchlaufen wird (Abb. 44). Abb. 45 zeigt den Verlauf des Rezeptorpotentials und die aufsummierte Anzahl induzierter Aktionspotentiale während eines Reizes von 5 s Dauer bei der Temperaturfolge: 0°C, 10°C, 20°C und 10°C. Hier wird die unterschiedliche Temperaturabhängigkeit von Rezeptorpotential und Anzahl der Aktionspotentiale deutlich. Während die Rezeptorpotential-Amplitude bei höheren Temperaturen kleiner ist, wird die Anzahl der dadurch induzierten Aktionspotentiale bei jeweils höheren Temperaturen größer. Die Hysterese zeigt sich sowohl beim Rezeptorpotential als auch bei der Anzahl der Aktionspotentiale. Beim Rezeptorpotential beträgt der bei 10°C gemessene Unterschied abhängig von der Temperatur-Vorgeschichte ca. 30 %. Bei der Anzahl der Aktionspotentiale ist er mit 40 % noch deutlicher. Trägt man deren aufsummierte Anzahl in Abhängigkeit vom Rezeptorpotential auf, so ergeben sich unterschiedliche Abhängigkeiten für die verschiedenen Temperaturen (Abb. 46). Zehn Aktionspotentiale werden hier bei 20°C von einer Rezeptorpotentialänderung von 1.5 mV ausgelöst, bei 10°C von ca. 3 mV und bei 0°C von 4 mV.

Zur Meßmethode sei noch angemerkt, daß die hohe Reizquellenbeladung von 100 µg (E)-6,(Z)-11-Hexadecadienal nicht zur Adaption des Präparates führt, da sich die vom Filterpapier abgegebene Pheromonmenge mindestens um den Faktor 50 reduziert, denn bedingt durch die spezielle Reizgebungsanordnung werden maximal 4 ml pheromonbeladener Luft pro s dem Dauerluftstrom von 200 ml/s beigemischt. Außerdem sorgt das ständige Absaugen (vgl. 3.2.3. und Abb. 13) der pheromonangereicherten Luft dafür, daß sich im Gegensatz zur "Spritzentechnik" keine pheromonbeladene Duftwolke mit hoher Duftmoleküldichte bilden kann.

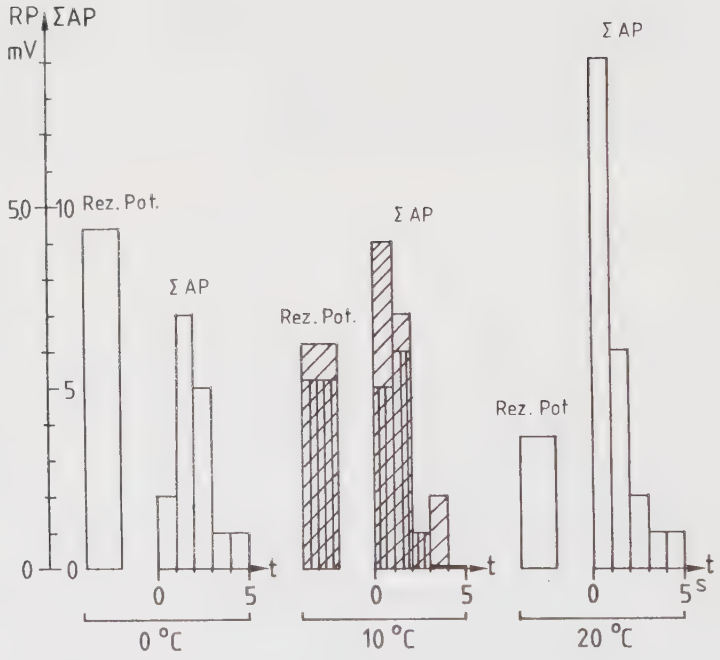

Abb. 43: Rezeptorpotential-Amplituden (Rez.Pot.) und Anzahl der Aktionspotentiale (Σ AP) pro Sekunde, gemessen an Antheraea pernyi bei 0°C und 20°C. Bei 10°C stellen die senkrecht schraffierten Säulen die Werte mit 0°C Vortemperatur, die schräg gestreiften die mit 20°C Vorgeschichte dar. Reizdauer: 5s; Reizpause: 120s; Reizquellenbeladung: 100 µg (E)-6,(Z)-11-Hexadecadienal.

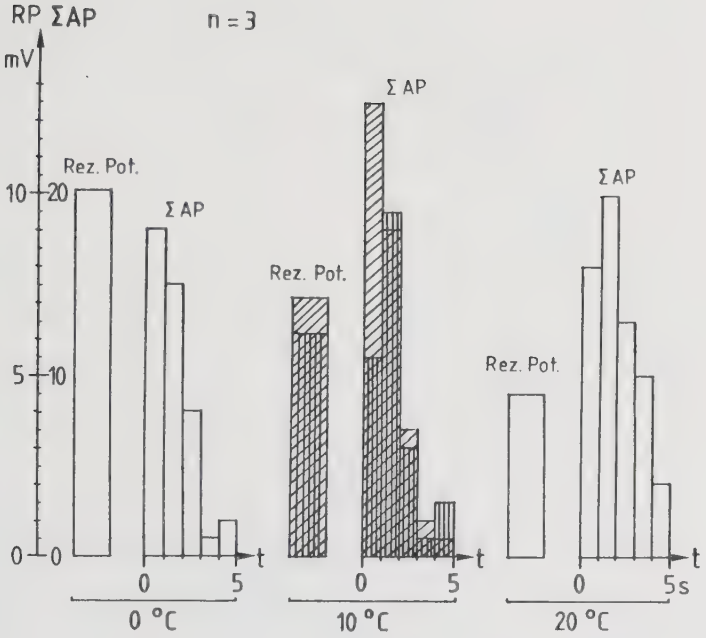

Abb. 44: Rezeptorpotential-Amplituden (Rez.Pot.) und Anzahl der Aktionspotentiale (Σ AP) pro Sekunde, gemessen an Antheraea pernyi bei 0°C und 20°C. Bei 10°C stellen die senkrecht schraffierten Säulen die Werte mit 0°C Vortemperatur, die schräg gestreiften die mit 20°C Vorgeschichte dar. Reizdauer: 5s; Reizpause: 120s; Reizquellenbeladung: 100 µg (E)-6,(Z)-11-Hexadecadienal.
Bei diesen Messungen wurde das Temperaturprogramm: 0°C, 10°C, 20°C, 10°C dreimal hintereinander durchlaufen.

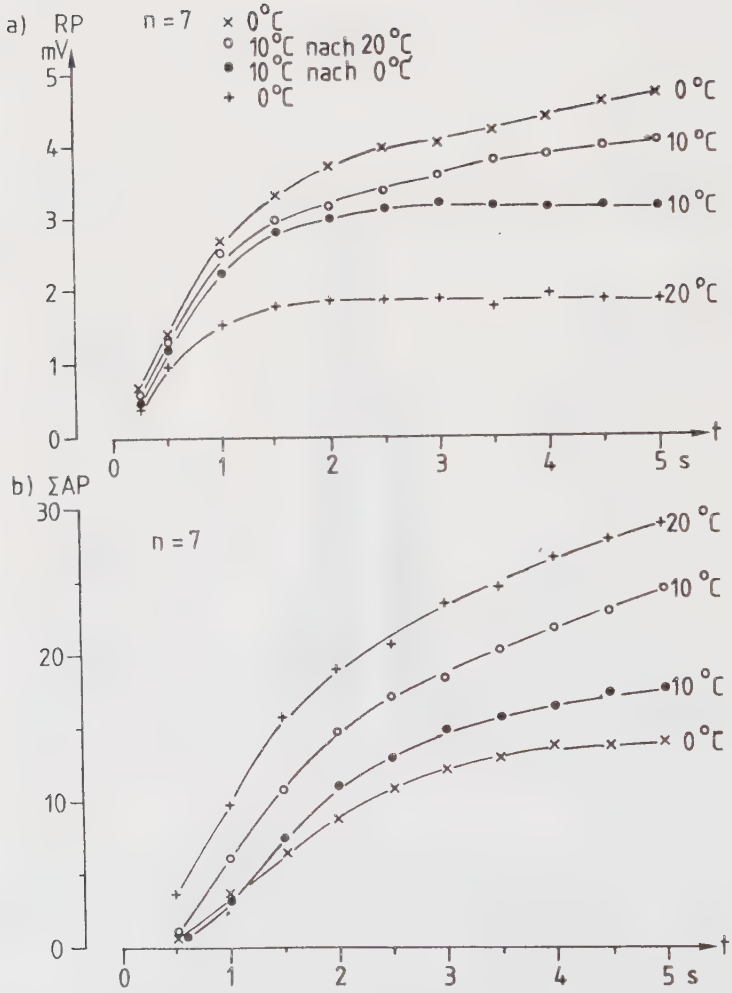

Abb. 45: Verlauf des a) Rezeptorpotentials und b) der Anzahl der induzierten Aktionspotentiale während eines Reizes von 5 s Dauer bei den Temperaturen 0°C (-x-), 10°C nach 0°C (-●-), 20°C (-+-), 10°C nach 20°C (-o-); gemessen bei Antheraea pernyi. Die Werte bezeichnen Mittelwerte aus sieben Messungen. Reizpause: 120 s; Reizquellenbeladung: 100 µg (E)-6,(Z)-11-Hexadecadienal.

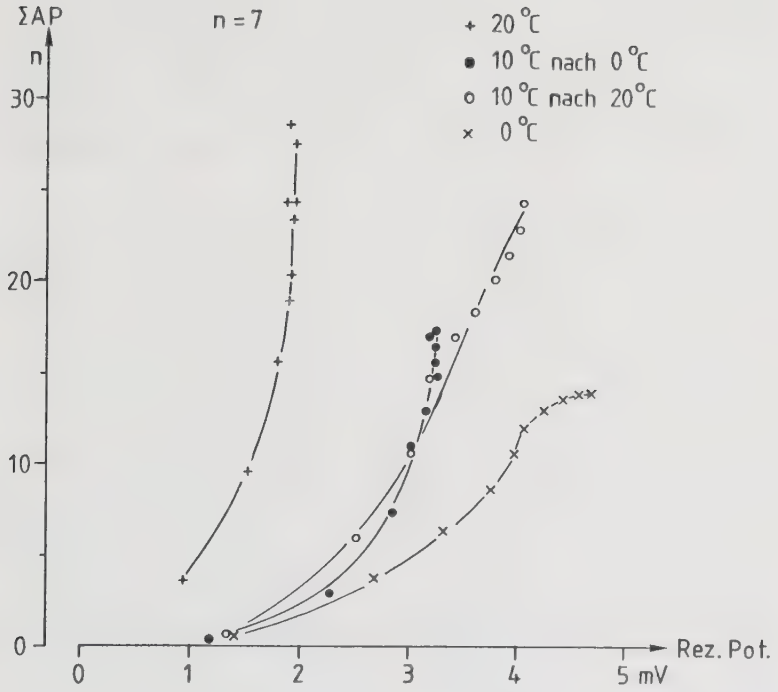

Abb. 46: Anzahl der Aktionspotentiale in Abhängigkeit von der Rezeptorpotentialhöhe während eines Reizes von fünf Sekunden Dauer bei den Temperaturen 0°C (-x-), 10°C nach 0°C (-•-), 20°C (-+-), 10°C nach 20°C (-o-); gemessen bei Antheraea pernyi. Die Punkte bezeichnen Mittelwerte aus sieben Messungen. Reizpause: 120s; Reizquellenbeladung: 100 µg (E)-6,(Z)-11-Hexadecadienal. Werte aus Abb. 45.

4.2.3. Temperaturabhängigkeit des Rezeptorpotentials und der Impulsfrequenz

Trägt man die relativen Rezeptorpotentialwerte aus Abb. 45 für die Temperaturen 0 und 20°C im halblogarithmischen Maßstab auf, so wird deutlich, daß diese Werte bei 20°C auf einer Geraden liegen, während sich bei 0°C zwei Geraden mit dem Schnittpunkt bei 2 s ergeben. Für die Anfangsphase des Rezeptorpotentials beträgt die Halbwertszeit 0.45 s für 20°C und 0.9 s für 0°C (Abb. 47). Unter dieser soll hier die Zeit bis zum Erreichen des halbmaximalen Wertes verstanden werden.
Die an der Haarspitze abgeleiteten Aktionspotentiale zeigten abhängig von der Temperatur in ihrer positiven Phase eine Amplitude zwischen 6 mV bei 0°C und 2 mV bei 25°C. Bei 30°C konnten nur unter speziellen Bedingungen (kontinuierliches Temperaturprogramm, Abb. 42) Aktionspotentiale abgeleitet werden. Wird das Präparat für längere Zeit dieser Temperatur ausgesetzt, wie das bei stufenartigem Temperaturprogramm der Fall ist, so können keine Aktionspotentiale mehr ausgelöst werden. Selbst bei anschließender Temperaturerniedrigung treten keine oder in ihrer Anzahl sehr stark verminderte Aktionspotentiale auf. Das Rezeptorpotential ist aber unter diesen Bedingungen noch meßbar. Dieses Beispiel veranschaulicht, daß es möglich ist, durch Stimulation ein Rezeptorpotential auszulösen, das dann aber nicht mehr in eine Impulsfrequenz umgesetzt wird. Weiterhin konnte gezeigt werden, daß bei langer Versuchsdauer die durch gleich hohe Rezeptorpotentiale ausgelöste Anzahl von Aktionspotentialen abnimmt. Diese Befunde stellen die Frage nach der quantitativen Umsetzung des Rezeptorpotentials in die Folge der Aktionspotentiale. Einen Einblick in diese Problematik vermitteln die folgenden Ergebnisse.
In Abb. 48 ist die Frequenz der Aktionspotentiale für die Intervalle 0 - 0.5, 0.5 - 1.0 und die zwischen 1, 2, 3, 4 und 5 s während eines Reizes von 5 s Dauer für die Temperaturen 0 und 20°C aufgetragen. Dabei wird deutlich, daß die Impulsfrequenz in der Anfangsphase des Reizes am höchsten ist. Trägt

man diese Werte in Abhängigkeit von der jeweils erreichten Rezeptorpotentialhöhe auf (Abb. 49), so ergeben sich sowohl für 0°C als auch für 20°C Extremwertkurven, deren Maxima bei 1.5 mV (20°C) bzw. bei 2.75 mV (0°C) liegen. Die für die Anfangsphase aus dem Abstand aufeinander folgender Aktionspotentiale bestimmte Frequenz in Abhängigkeit von der Rezeptorpotentialhöhe ergibt mit der Temperatur abnehmende Anstiegssteilheiten (Abb. 50). Der Zusammenhang zwischen Rezeptorpotential und Aktionspotentialfrequenz ist nicht invariant gegenüber der Temperatur(vgl. auch Abb. 46).

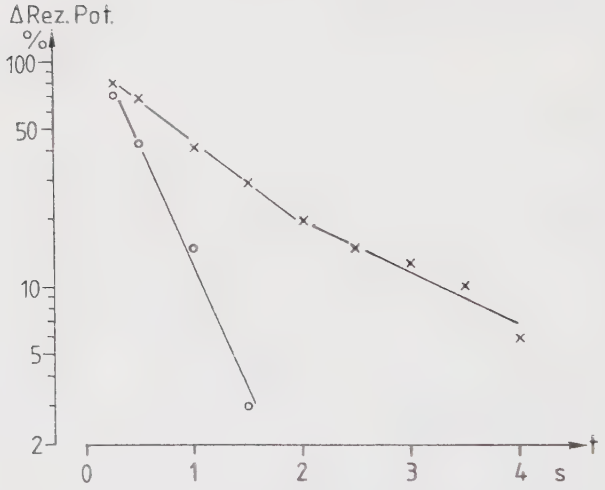

Abb. 47: Abhängigkeit der relativen Rezeptorpotentialwerte von der Reizzeit bei den Temperaturen 0°C (-x-) und 20°C (-o-), gemessen an Antheraea pernyi. Werte aus Abbildung 45a.

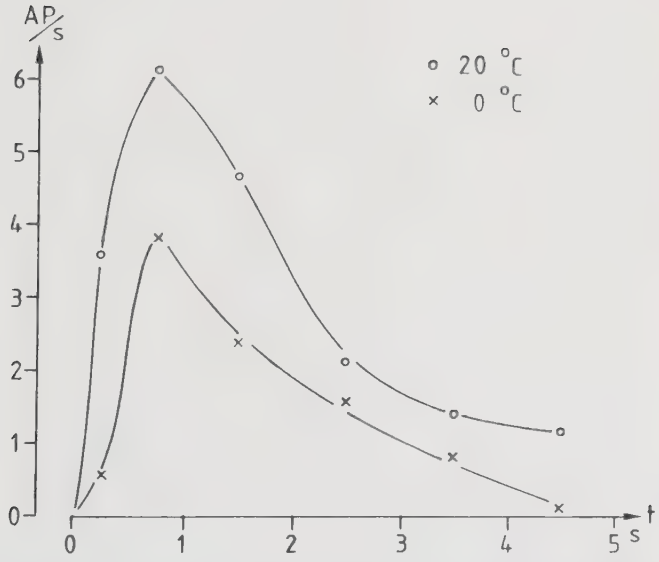

Abb. 48: Frequenz der Aktionspotentiale während eines Reizes von 5 s Dauer bei den Temperaturen von 0°C (-x-) und 20°C (-o-), gemessen bei Antheraea pernyi.
Werte aus Abbildung 45b.

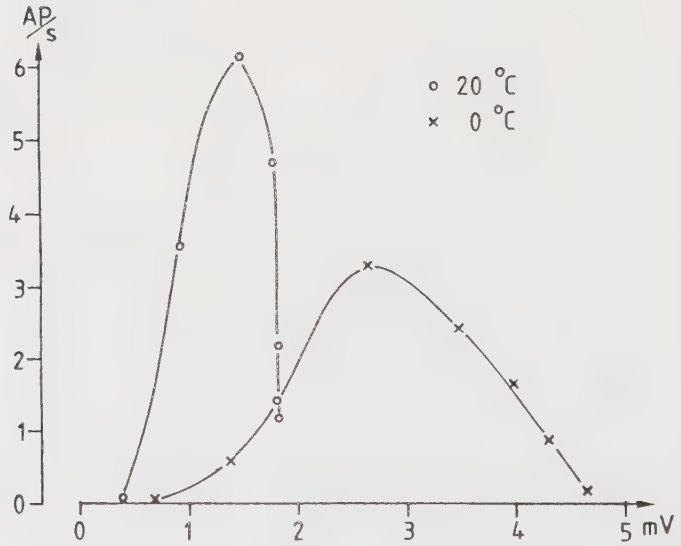

Abb. 49: Frequenz der Aktionspotentiale in Abhängigkeit von der jeweiligen Rezeptorpotentialhöhe während eines Reizes von 5 s Dauer bei den Temperaturen von 0°C (-x-) und 20°C (-o-), gemessen bei Antheraea pernyi. Werte aus Abbildung 45.

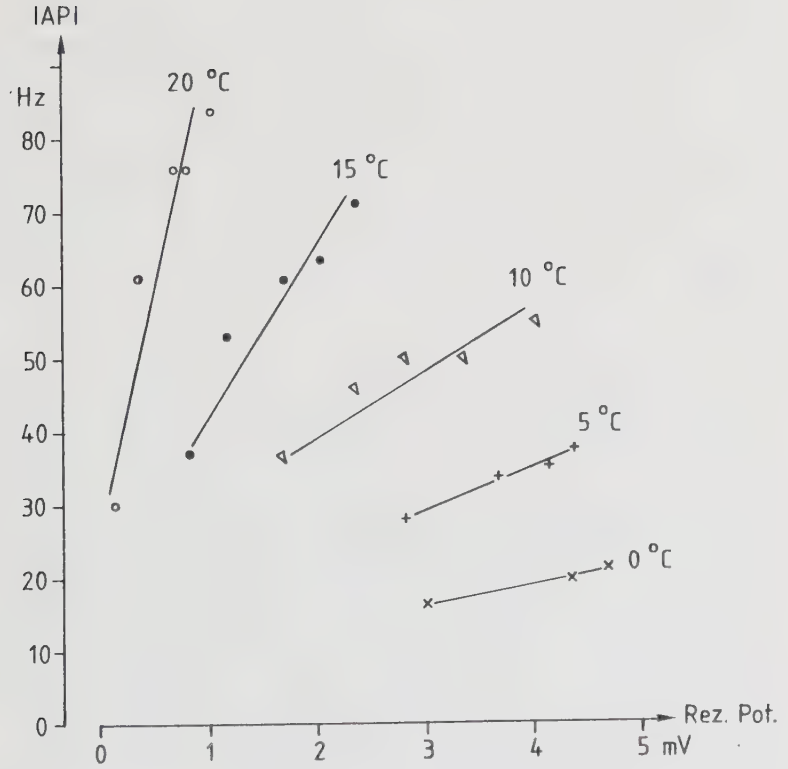

Abb. 50. Abhängigkeit der Frequenz von aufeinanderfolgenden Aktionspotentialen vom jeweiligen Rezeptorpotential bei den Temperaturen 0°C (-x-), 5°C (-+-), 10°C (-◁-), 15°C (-●-) und 20°C (-o-), gemessen bei Antheraea pernyi. Reizdauer: 0.25s; Reizquellenbeladung: 10 µg (E)-6,(Z)-11-Hexadecadienal.

5. Diskussion

Die Diskussion befaßt sich zunächst mit den Gemeinsamkeiten, die zwischen EAG und ESG festgestellt werden konnten (5.1.). Im weiteren wird die Ableitmethode näher erörtert (5.2.). Die im Rahmen dieser Arbeit festgestellten Optimums- und Hysteresekurven werden in den beiden folgenden Kapiteln (5.3. und 5.4.) mit experimentellen Befunden anderer Autoren verglichen. Eine ausführliche Diskussion der beiden Effekte (Optimum und Hysterese) folgt im Kapitel 5.5. an Hand eines Schemas. Unter 5.6. wird die Umsetzung des Rezeptorpotentials in die Anzahl der Aktionspotentiale diskutiert. Abschließend wird in Kapitel 5.7. die biologische Bedeutung der Optimumskurven erörtert.

5.1. Kurze Zusammenfassung der gemeinsamen Meßergebnisse bei EAG und ESG

Die hier durchgeführten Untersuchungen zeigen viele Gemeinsamkeiten zwischen EAG und ESG. Sowohl bei kontinuierlichem als auch bei stufenartigem Temperaturprogramm ergeben die Elektroantennogramm-Amplituden in Abhängigkeit von der Temperatur Optimumskurven. Dies wird in Tab. 2 und Abb. 16 für 5 verschiedene Schmetterlingsarten gezeigt. Auch bei der Einzelsensillenableitung resultieren für die Amplituden der Rezeptorpotentiale und für die Anzahl der Aktionspotentiale Graphen mit einem Optimum (Abb. 39, 42).
Weiterhin konnte der Effekt der Hysterese mit beiden Ableittechniken bei allen untersuchten Arten und verschiedenen Reizquellenbeladungen gefunden werden; er zeigt sich sowohl bei kontinuierlichem als auch bei stufenförmigem Temperaturprogramm (EAG: Tab. 4, Abb. 23-31; ESG: Abb. 42-45). Weitere Parallelen zwischen EAG und ESG ergibt der zeitliche Verlauf der Potentialänderungen in Abhängigkeit von der Temperatur; sie werden mit zunehmender Temperatur schneller. Dies zeigt Abb.

33 für das EAG und Abb. 38 für das Rezeptorpotential. Diese Ergebnisse belegen den sehr engen Zusammenhang zwischen EAG und ESG, wie er auch 1983 von Nagai an Ostrinia und von Löfstedt et al. an Dioryctria abietella festgestellt wurde. So konnte Nagai bei synchron abgeleitetem Elektroantennogramm und Elektrosensillogramm zeigen, daß die EAG- und die Rezeptorpotential-Amplituden im Laufe der Zeit bei repetitiven Messungen und gleichbleibender Reizstärke mit zunehmender Versuchsdauer abnehmen. Diese Abnahme war bei den im Rahmen der obengenannten Arbeit durchgeführten 32 Präparationen sehr ähnlich; ein Antennenpräparat mit langer Lebensdauer im EAG zeigt diese auch im ESG. Die Ähnlichkeiten im Antwortverlauf legen nahe, daß beide von erregten olfaktorischen Zellen herrühren und das Elektrosensillogramm eine Teileinheit des Elektroantennogramms darstellt. Die Untersuchungen von Löfstedt belegen bei einem Vergleich zwischen EAG und Anzahl der Aktionspotentiale die Ähnlichkeit der Amplitudenprofile bei Reizung mit verschiedenen Testsubstanzen. Diese Ergebnisse werden durch die hier gefundenen Resultate ergänzt. Die beiden Ableittechniken zeigen also nicht nur Parallelen in der Amplitudenabnahme in Abhängigkeit von der Meßdauer oder in ihrer Antworthöhe auf verschiedene Testsubstanzen, sondern auch in ihrer Temperaturabhängigkeit.

5.2. Diskussion der Ableitmethode

Das Elektrogramm entsteht durch mehr oder weniger gleichzeitig ablaufende Prozesse bei allen aktiven Sensillen der Antenne. Die Methode, an einem einzelnen Sensillum abzuleiten, bietet den Vorteil, daß bei einem adäquaten Reiz nicht die Summation der Antworten vieler Sinneszellen, sondern die eines einzelnen Sensillums betrachtet werden kann. Befinden sich in diesem mehrere Sinneszellen für verschiedene Substanzen, so läßt sich in der Regel anhand der Höhe der Aktionspotentiale feststellen, welche Sinneszelle auf die Testsubstanz antwortet. So gibt zum

Beispiel die "Aldehyd"-Zelle von Antheraea pernyi größere Impulse ab als die "Acetat"-Zelle. Es ist daher mit dieser Methode möglich, die Vorgänge der Reizaufnahme und Verarbeitung an einer einzelnen Sinneszelle zu studieren.
Bedingt durch die Methode, die Potentialänderungen mit der differenten Elektrode an der abgeschnittenen Sensillenspitze abzuleiten, während sich die indifferente Elektrode im Hämolymphraum der Antenne befindet, mißt man ein positives transepitheliales Potential. Durch einen Duftstoffreiz wird es depolarisiert; diese Potentialänderung ist auf das durch den Reiz ausgelöste Rezeptorpotential zurückzuführen. Die dadurch induzierten Nervenimpulse weisen bei dieser Ableittechnik in ihrer ersten Phase in positive und in ihrer zweiten in negative Richtung. Diese zweiphasige Form der abgeleiteten Impulse wurde bereits bei Rezeptoren anderer Insekten festgestellt. So führten Untersuchungen an Geschmackssensillen von Fliegen (Morita und Yamashita 1959, Wolbarsht und Hanson 1965, Fujishiro et al. 1984) und an mechanischen Sensillen (Thurm 1963, 1972, 1974, Bernard und Guillet 1972, Erler und Thurm 1981) zu folgenden Vorstellungen: Das Rezeptorpotential entsteht durch eine stimulationsinduzierte Abnahme des Membranwiderstandes im äußeren dendritischen Segment. Diese Potentialänderung wird entlang des Dendriten weitergeleitet und führt in der Nähe der Somaregion zur Auslösung der Aktionspotentiale. Dieses Modell erklärt auch die unterschiedliche Polarität des Rezeptorpotentials und der ersten Phase der abgeleiteten Nervenimpulse. Die zweiphasige Form wird auf eine antidrome Fortleitung vom Zellsoma in das Haar zurückgeführt.
Eine dazu alternative Erklärung gibt de Kramer auf Grund der Ergebnisse seiner Untersuchungen an Sensilla trichodea von Antheraea polyphemus. Er weist darauf hin, daß die Aktionspotentiale auch im Bereich des Dendriten entstehen könnten und die zweiphasige Wellenform der Nervenimpulse nicht auf zurückwandernden Aktionspotentialen beruht, sondern ihre Ursache in Membrankapazitäten des Sensillums hat (de Kramer et al. 1984, de Kramer 1985).
Eine Erklärung dieser Vorgänge, die alle Ergebnisse zufriedenstellend berücksichtigt, ist zum heutigen Zeitpunkt nicht mög-

lich. Die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Untersuchungen befassen sich nicht mit der Form der abgeleiteten Nervenimpulse, sondern mit dem durch einen olfaktorischen Reiz hervorgerufenen Rezeptorpotential und der dadurch induzierten Anzahl der Aktionspotentiale.

5.3. Optimumskurven

Aus Tab. 2 und Abb. 16 wird ersichtlich, daß die EAG-Amplitude in Abhängigkeit von der Temperatur ein Optimum zeigt. Im unteren Temperaturbereich nehmen die Amplituden mit steigender Temperatur zu, nach einem Maximum ab. Im gleichen Temperaturbereich wird der EAG-Verlauf zu höheren Temperaturen hin immer schneller, die Halbwertsbreite des EAG damit schmäler (Abb. 33). Diese wird maßgeblich von der Anstiegsphase beeinflußt (Abb. 34b). Daraus ist ersichtlich, daß den beiden Phasen verschiedene Prozesse mit unterschiedlichen Temperaturabhängigkeiten zu Grunde liegen. Die EAG-Dauer nimmt für jeweils höhere Temperaturen stetig ab, auch dann, wenn die EAG-Amplitude ein Maximum durchläuft (Abb. 34). Trägt man den Quotienten aus Amplitude und Dauer der Abfall- bzw. Anstiegsphase des EAG auf, so ergeben sich für beide Phasen Optimumskurven (Abb. 35). Dies könnte ein Hinweis dafür sein, daß bei diesem Maximum das Zusammenspiel der für die EAG-Amplitude verantwortlichen Prozesse optimal ist.
Die bis zum Optimum zunehmenden Amplituden schließen die Diffusion als reaktionsgeschwindigkeitsbestimmenden Prozeß aus folgenden Gründen aus: Bei allen spontan ablaufenden oder katalysierten physikochemischen Vorgängen steigt die Transportgeschwindigkeit mit der Temperatur exponentiell an (Höfer 1977). Der Temperaturquotient Q_{10} ist durch folgende Gleichung definiert:

$$Q_{10} = \frac{k_{(T+10)}}{k_T}$$

wobei k_T und k_{T+10} die Geschwindigkeitskonstanten der untersuchten Reaktion bei Temperaturen T bzw. (T+10) sind. Physikalische Vorgänge besitzen einen Temperaturkoeffizienten (Q_{10}) mit einem Wert zwischen 1.03 und 1.3 (Lullies 1975). In den untersuchten Fällen variieren die aus Tab. 2 berechneten Q_{10}-Werte (Tab. 3) zwischen 1.0 und 4.2 und betragen im Bereich 0 bis 10°C im Mittel 1.7. Die temperaturabhängige Diffusionsgeschwindigkeitsänderung der Pheromonmoleküle an der cuticulären Oberfläche der Sensillen und auf ihrem Weg zur Dendritenmembran kann man deshalb als Erklärung der Amplitudenzunahme im unteren Temperaturbereich unter gewissen Vorbehalten ausschließen.

Wie aus Tab. 2 ersichtlich, verschiebt sich das temperaturabhängige Optimum bei hohen Reizquellenbeladungen zu höheren Temperaturen. Dies wird am Beispiel von Agrotis segetum graphisch gezeigt (Abb. 17). Die Werte sind bei den verschiedenen Konzentrationen jeweils auf den Maximalwert normiert, um die durch die Meßdauer bedingte Abnahme der Amplituden auszuschliessen. Berechnet man die Q_{10}-Werte der EAG-Amplituden im Temperaturbereich zwischen 0 und 15°C, so zeigt es sich, daß dieser für die verschiedenen Konzentrationen konstant ist. Er beträgt 1.5. Der Abfall der Amplituden im Temperaturbereich nach der "Optimumstemperatur" ist für die verschiedenen Konzentrationen unterschiedlich. Bei der Reizquellenbeladung von 100 µg wird keine Optimumskurve durchlaufen, sondern ein Plateau erreicht. Dieser Effekt ist reversibel. Reizt man nach der Beladung von 100 µg wieder mit 1.0 µg, so wird wieder eine Optimumskurve durchlaufen. Mißt man bei konstanter Reizquellenbeladung mehrere Temperaturzyklen hintereinander, so kann es auch hier zu einer Verschiebung des Maximums zu höheren Temperaturen kommen (Abb. 18). Mit zunehmender Meßdauer an einem Präparat verschieben sich die Graphen im oberen Temperaturbereich nach rechts. Dieser Einfluß ist auch bei den Messungen von Abb. 17 zu berücksichtigen. Betrachtet man jedoch die EAG-Werte bei 30°C, so wird deutlich, daß dieser Effekt zu vernachlässigen ist.

Auch bei der Rezeptorpotentialamplitude lassen sich unter bestimmten Bedingungen Optimumskurven feststellen (Abb. 39, 40);

diese werden aber nur bei kurzen Reizdauern erzielt; werden sie verlängert, so treten keine Optimumskurven mehr auf. Bei einer Reizdauer von einer Sekunde und länger hat die Amplitude des Rezeptorpotentials ihren höchsten Wert bei 0°C. Er nimmt mit steigender Temperatur ab (vgl. Abb. 39). In diesem Beispiel ändert sich nur die Reizdauer, die Reizquantitäten pro Zeit bleiben gleich.

Bei allen Messungen wurden das Temperaturprogramm und auch der Reizabstand konstant gehalten. Man kann deshalb davon ausgehen, daß sich das Präparat bei den einzelnen Messungen bei gleicher Temperatur im selben physiologischen und thermodynamischen Zustand befand. Der Effekt der Adaptation für längere Reizdauern kann ausgeschlossen werden, da bei deren Verlängerung die Rezeptorpotentialamplitude ihren maximalen Wert erreicht und nicht abnimmt.

Die Optimumskurve, die sich für kurze Reize ergibt, ist auch in den Messungen mit langer Reizdauer enthalten. Mißt man in dem Meßdurchgang mit 10 s Reizdauer das Rezeptorpotential, das sich 0.5 s oder 1 s nach Reizbeginn eingestellt hat, so ergibt sich wieder eine Optimumskurve (Abb. 40). Bei niedrigen Temperaturen laufen die für die Höhe des Rezeptorpotentials verantwortlichen Prozesse so langsam ab, daß bei kurzer Reizdauer der für diese Temperaturen mögliche Maximalwert nicht erreicht wird. Diese Vermutung konnte durch ein Experiment bestätigt werden, bei dem die Temperatur während eines Meßzyklus konstant gehalten und die Reizdauer variiert wurde (Abb. 41). Bei 0°C wird erst bei einer Reizlänge von 5 s der maximale Amplitudenwert erreicht.

Die maximale Amplitude des Rezeptorpotentials zeigt einen nahezu linearen Abfall mit zunehmender Temperatur (Abb. 38a). Uehara und Morita (1972) konnten an labellaren Chemorezeptoren von Phormia regina zeigen, daß das Rezeptorpotential für Glucose und NaCl mit höherer Temperatur zunimmt, das Wasser-Rezeptorpotential jedoch temperaturunabhängig ist. Die Anstiegsgeschwindigkeit der Rezeptorpotentiale nimmt aber gleichzeitig für alle drei getesteten Substanzen mit zunehmender Temperatur zu. Dieses Ergebnis stimmt mit den in dieser Arbeit gefundenen temperaturabhängigen Anstiegs- und Abfallzeiten des Rezeptor-

potentials überein (Abb. 38b). Beträgt z.B. die Halbwertszeit für die Depolarisation bei 0°C ca. 2.3 s, so verkürzt sie sich mit zunehmender Temperatur und beträgt bei 30°C nur noch ca. 0.5 s. Eine ähnliche Tendenz konnte bei an Pacinikörperchen der Katze abgeleiteten Rezeptorpotentialen festgestellt werden. Dort nehmen die Anstiegs- und Abfallzeiten im Bereich zwischen 10 und 40°C auf etwa 50 % ab (Ishiko und Loewnstein, 1961). Interessant sind in diesem Zusammenhang Untersuchungen am Streckmuskel der Krabbe Pachygrapsus crassipes (Stephens und Atwood 1981). Sie konnten bei einem Anstieg der Temperatur einen Abfall der Amplitude der hervorgerufenen excitatorischen synaptischen Potentiale feststellen. Die Zeit bis zum Erreichen des jeweils maximalen Amplitudenwertes wird mit zunehmender Temperatur kürzer. Das Maximum wird, wie auch bei den in dieser Arbeit durchgeführten Messungen bei höheren Temperaturen schneller erreicht.

In der Versuchsanordnung, die der Abb. 39 zu Grunde liegt, wurde bei den einzelnen Meßzyklen (mit 0.25, 0.5, 1.0, 5.0 und 10.0 s Reizdauer) das Temperaturprogramm jeweils gleich schnell durchlaufen. Vergleicht man nun die einzelnen Meßpunkte der verschiedenen Zyklen (z.B. 5°C und 0.25 s Reizdauer und 5°C und 10.0 s Reizdauer), so sollte sich bei gleicher Temperatur das Präparat jeweils im gleichen physiologischen Zustand befinden. Daher darf man annehmen, daß das Adsorptions-Desorptions-Verhältnis an der Antennenoberfläche, die Diffusionsgeschwindigkeit der Duftmoleküle, die Leitfähigkeit der einzelnen Kanäle, die nicht kanalbedingte Leitfähigkeit der Membran, die temperaturabhängige spontane Öffnungsrate der Kanäle, die Energieversorgung durch die elektrogenen Ionenpumpen, das Verhältnis der Anzahl der flüssigen zu den kristallinen Lipiden im rezeptiven Bereich, die Öffnungszeit des einzelnen Kanals und die Bindungswahrscheinlichkeit des Duftmoleküls an den Rezeptor bei gleicher Temperatur als jeweils vergleichbar oder identisch anzusehen sind.

Eine mögliche Erklärung der Tatsache, daß das Rezeptorpotential bei niedrigen Temperaturen erst bei langer Reizzeit seinen maximalen Wert (steady state-Amplitude) erreicht (vgl. Abb. 39, 40 u. 41), wäre, daß die Öffnungszeit der einzelnen

Kanäle bei 0°C sehr lang ist und deshalb bei längerer Reizdauer mehr Kanäle gleichzeitig offen sind, als bei kurzer. Dies würde zu einem höheren Rezeptorpotential für längere Reizdauern führen. Nimmt die Temperatur nun zu, so nimmt die Öffnungszeit der aktivierbaren Kanäle ab. Dies führt zu einer kleineren Rezeptorpotentialamplitude. Es ist auch vorstellbar, daß beide Prozesse diese Verringerung für höhere Temperaturen bewirken. Die Optimumskurven für kurze Reizzeiten ergeben sich dadurch, daß das Rezeptorpotential vor Erreichen seines Maximalwertes durch Beendigung des Reizes abgebrochen wird.
Eine weiterführende Diskussion unter Berücksichtigung einer anderen Erklärungsmöglichkeit erfolgt unter 5.5.

5.4. Hysterese

Wird der Bereich zuerst mit zunehmender und dann mit abnehmender Temperatur durchlaufen, so werden in der Regel bei gleicher Temperatur für Meßpunkte mit hoher Vortemperatur größere EAG-Amplitudenwerte gemessen, als nach niedriger Vortemperatur (Abb. 23). Dieser Effekt wird durch das Altern des Präparates abgeschwächt (vgl. Abb. 22), ist jedoch deutlich erkennbar. Ohne diese altersbedingte Abnahme wäre der Unterschied der Amplituden für eine Temperatur (Tab. 4) aber unterschiedlicher Vorgeschichte erheblich größer, da der Wert bei abnehmender Temperatur später gemessen wurde. Das hier gemessene Phänomen kann nicht durch ein verlangsamtes Einstellen der Amplitude auf die Temperatur, wie es z.B. einem Einschwingvorgang entspräche, erklärt werden, da die Werte in Richtung abnehmender Temperatur deutlich über denen in zunehmender liegen; auch dann noch, wenn die Amplituden beispielsweise bei 30°C deutlich niedriger als bei der optimalen Temperatur sind.

Bei höheren Reizquellenbeladungen ist die Hysterese besser sichtbar (Abb. 25). Die maximalen prozentualen Unterschiede bleiben in etwa gleich.
Die Verschiebung des Maximums zu höheren Temperaturen bei

größeren Reizquellenbeladungen (Abb. 26) wird vom Alterungseffekt ebenfalls überlagert (vgl. dazu auch 4.1.1.2., Abb. 18, Abb. 22). In diesem Zusammenhang ist interessant, daß trotz der starken Abnahme der EAG-Amplituden-Werte mit zunehmender Versuchsdauer der Effekt der Hysterese sichtbar bleibt, auch wenn die Amplituden beim letzten Meßzyklus auf ca. 50 % des Anfangswertes abgesunken sind (Abb. 28).
Durchläuft man den Temperaturzyklus mit unterschiedlicher Geschwindigkeit und damit verbunden mit verschiedenem Reizabstand, so ändern sich auch die Kurvenverläufe für die gemessenen EAG-Amplituden-Werte (Abb. 27, Abb. 28). Das ist nicht erstaunlich, wenn man bedenkt, daß beim EAG mehrere Prozesse mit wahrscheinlich unterschiedlichen temperaturabhängigen Zeitkonstanten beteiligt sind. Auch bei diesen Messungen wird der Einfluß der Alterung des Präparates deutlich und erschwert damit die Interpretation. Aus diesem Grund sind Versuchsprogramme, die kein mehrmaliges Durchlaufen des Temperaturzyklus erfordern, erfolgversprechender.
Auch bei stufenförmiger Temperaturänderung bleibt der Effekt der Hysterese erhalten (Abb. 30, Abb. 31). Hier hat das Präparat jeweils 180 s Zeit, sich auf eine gleichbleibende Temperatur einzustellen. Hysterese ist also nicht an kontinuierliche Temperaturänderung gebunden und beruht auf temperaturabhängigen Prozessen, die länger als drei Minuten dauern. Im Beispiel der Abb. 24 halten diese Vorgänge mehr als sechs Minuten an; danach ist die Hysterese nicht mehr meßbar, was zeigt, daß diese ein zeitabhängiges Phänomen ist.
Im weiteren wurden Untersuchungen mit Pheromonanalogen durchgeführt, bei denen sich die Duftmoleküle in ihrer Kettenlänge nur um eine CH_2-Gruppe unterschieden (Abb. 29); es stellen sich deutliche Unterschiede in der Gestalt der Hysterese dar. Dieses Ergebnis zeigt, daß die Struktur des Reizmoleküls den Verlauf der Hysterese beeinflußt. Das könnte als ein Hinweis auf die Wechselwirkung des Reizmoleküls mit Lipiden in der Rezeptorregion angesehen werden.
An dieser Stelle sei auf einen Befund hingewiesen, der zeigt, daß Hysterese nicht auf eine Änderung der Bindungskonstante mit zunehmender Meßdauer beruht. Denn trotz des Alterungspro-

zesses des Präparates ändert sich der Bindungskoeffizient des Pheromons an den Rezeptor nicht, wie aus Messungen an Antheraea pernyi (Abb. 19) folgt. Hier wurden bei konstanter Temperatur mehrere Kennlinien aufgenommen. Obwohl die Abnahme der gemessenen Werte (a) mit zunehmendem Alter des Präparats erheblich ist, bleiben die relativen auf das jeweilige Maximum bezogenen Werte (b) vergleichbar. Die für die Michaelis-Menten-Kinetik entscheidende Konzentration beim halbmaximalen Wert ändert sich kaum. Sie liegt zwischen 1.0 und 3.0 µg Reizquellenbeladung. Innerhalb der Fehlergrenzen ist deshalb ein Einfluß der Alterung auf die Bindungskonstante nicht feststellbar.

Hysterese konnte auch bei Messungen an einzelnen Sensillen festgestellt werden.
Dieser Effekt läßt sich nochmals wie folgt beschreiben: Bei konstant gehaltenen Außen- und Reizbedingungen unterscheidet sich die Antwort auf einen chemischen Reiz bei gleicher Temperatur abhängig von der Vorbehandlung. Die Antworten mit "warmer" liegen über denen mit "kalter" Vortemperatur.
Dies gilt sowohl für die Rezeptorpotentialamplitude (Abb. 43, 44 u. Abb. 45a) als auch für die Anzahl der Aktionspotentiale (Abb. 42, 43, 44, 45b). Die Hysterese tritt sowohl bei kontinuierlicher als auch bei stufenartiger Temperaturänderung auf. Bei stufenartigem Temperaturprogramm hat das Präparat 100 s Zeit, sich an eine konstante Temperatur zu adaptieren. Wegen der kleinen Abmessungen der Sensillen (l = 300 µm; ⌀ = 4 µm) kann davon ausgegangen werden, daß zum Reizbeginn das ganze Sensillum die vorgegebene Temperatur angenommen hat. Daraus folgt, daß das Adsorptions-Desorptions-Verhältnis und die Diffusionsgeschwindigkeit (bei gleicher Temperatur) identisch sind. Man darf daher annehmen, daß Hysterese auf Prozesse zurückzuführen ist, die an der Transduktion direkt beteiligt sind.
Bei Hysterese handelt es sich offensichtlich um ein allgemein gültiges Phänomen, denn sie wurde bei allen hier untersuchten Arten festgestellt und tritt sowohl beim EAG als auch beim ESG auf. Hysterese ist auch nicht von der Wahl des Temperaturprogramms abhängig, bleibt durch die Alterung des Präparates weit-

gehend unbeeinflußt und ist nicht auf eine bestimmte Konzentration des chemischen Reizes beschränkt.
Der Hysterese-Effekt ist jedoch abhängig von der Zeit zwischen zwei Reizen (Reizpause) und kommt selbst einige Minuten nach Temperaturänderung noch zur Ausprägung. Er ist jedoch nicht von unbegrenzter Dauer. Daraus wird ersichtlich, daß Hysterese mit Zeitkonstanten verbunden ist, die in der Größenordnung von Minuten liegen. Da Hysterese ein typisches Charakteristikum für Domänenstrukturen und deren Phasenübergänge mit metastabilen Zuständen ist, kann man die hier vorgestellten Ergebnisse als einen Hinweis dafür betrachten, daß Domänen aus Proteinen und Lipiden (Sackmann 1982) an der Öffnung der Ionenkanäle beteiligt sind.

Diese hier aufgestellte Hypothese muß in weiterführenden Arbeiten erhärtet werden. Dabei ist zu berücksichtigen, daß auch andere Faktoren beim Zustandekommen der Hysterese eine Rolle spielen könnten, wie z.B. die Veränderung der Ionenkonzentrationen in den verschiedenen Kompartimenten der Sensillen. Diesen und ähnlichen Fragestellungen soll bei weiteren Untersuchungen nachgegangen werden.

Für die Dendriten des Geruchssensillums konnte für Antheraeaarten noch keine Proteinbeteiligung am Kanalbildungsmechanismus nachgewiesen werden. Es wird jedoch allgemein angenommen, daß integrale Membranproteine an der Entstehung von Ionenkanälen beteiligt sind. Diese Proteine sind mit einem Ring von speziellen Lipiden umgeben, die sich in ihrer Konformation, Zusammensetzung oder in beidem von den hauptsächlich die Membranbildenden unterscheiden. Diese Lipide, die die Mikroumgebung der Proteine darstellen, sind im allgemeinen in einem kristallin-ähnlichen Zustand, im Gegensatz zum Hauptteil der Membranlipide, die sich im flüssigen Zustand befinden (Romey et al. 1980, Sackmann 1982). Ändert man die Temperatur, so zeigen die Lipide in direkter Nähe der Proteine bei einer bestimmten Temperatur Phasenumwandlung. Unterhalb dieser Temperatur liegt Domänenstruktur vor, die unter bestimmten Bedingungen zu Hysterese führt. Dies läßt sich z.B. dadurch erklä-

ren, daß eine Reihe von Domänen schon in einer umgewandelten Phase vorliegt, während sich die anderen noch im früheren Zustand befinden, d.h. nachhinken. Die Zahl der retardierenden Domänen hängt von der Temperaturvorgeschichte ab.
Dies konnte auch an künstlichen Lipidsystemen nachgewiesen werden. Für die Hysterese des Phasenübergangs werden metastabile Zustände angenommen (Trahms et al. 1983, Rowe 1985). Auch an biologischen Präparaten konnte für die Natriumstrom-Aktivierung und Inaktivierung dieses Phänomen nachgewiesen werden (Schwarz 1979, Benndorf und Nilius 1984). Die dort beobachteten Vorgänge laufen nach höherer Temperatur schneller ab. Die Autoren geben als Erklärung eine Änderung der Fluidität der den Rezeptor oder das Kanalprotein umgebenden Lipide an und ziehen diese Erklärung einer Änderung im Protein selbst vor. Romey et al. (1980) unterstützen mit ihren Untersuchungen über die elektrische Aktivierbarkeit von Ionenkanälen in Nervenmembranen die Möglichkeit, daß die Fluidität der Membranlipide in der direkten Umgebung des Ionenkanals den Grad der Öffnung des Kanals beeinflußt.

5.5. Erklärung der Ergebnisse anhand eines Schemas

Die in den vorangegangenen Kapiteln einzeln diskutierten Ergebnisse sollen nun anhand eines vereinfachten Schemas nochmals zusammenfassend erklärt und gedeutet werden (Abb. 51).

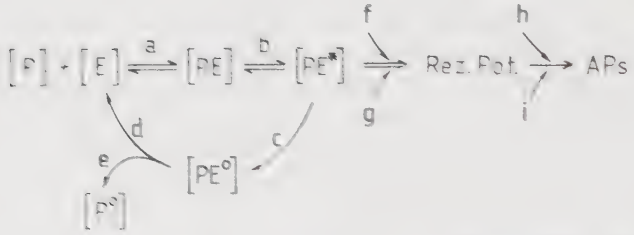

Abb. 51: Schema der auf Membranebene ablaufenden Vorgänge und ihrer Umsetzung in das Rezeptorpotential und der Folge von Aktionspotentialen.
P: an die Membran gelangendes Pheromonmolekül; E: Rezeptormolekül; PE: Pheromon-Rezeptor-Komplex; PE*: aktivierter Komplex; PE°: inaktivierter Komplex; P°: inaktiviertes Pheromonmolekül; a, b, c, d, e: Geschwindigkeitskonstanten für die einzelnen Reaktionsschritte; Rez.Pot.: Rezeptorpotential; APs: Folge der Aktionspotentiale; f: Anzahl, Öffnungsgeschwindigkeit und Öffnungsweite der Ionenkanäle; g: Rezeptorpotential-Generator; h: Codierung des Rezeptorpotentials in der Folge der Aktionspotentiale; i: Aktionspotential-Generator.

Die bei der Stimulation an der Dendritenmembran ankommenden Pheromonmoleküle (P) binden an vorhandene Rezeptoren (E) und bilden die Pheromon-Rezeptor-Komplexe (PE). Diese gehen in die aktivierten Komplexe (PE*) über, die zur Öffnung von Ionenkanälen führen, bzw. diese repräsentieren.

Diese Reaktionsschritte wurden bereits anhand von Einzelsensillenableitungen an Bombyx mori, Antheraea pernyi und Antheraea polyphemus diskutiert (Kaissling 1977, Kaissling 1978, Zack 1979). Es wird dabei angenommen, daß die Aktivierung gleichbedeutend mit einer Konformationsänderung des Rezeptors ist, die entweder die Öffnung von Ionenkanälen induziert oder mit ihr identisch ist.
Die bereits auf S. 76/77 diskutierte längere Öffnungszeit der Ionenkanäle für niedrige Temperaturen konnte bereits nachgewiesen werden. So zeigten z.B. Anderson et al. (1977) bei Glutamat-induzierten Ionenkanälen von Heuschrecken und Fischbach und Lass (1978) an Muskeln von Hühnerembryos, daß die Öffnungszeit der Ionenkanäle mit zunehmender Temperatur kleiner wird. Weiterhin konnten Cohen und van der Kloot (1983) an von Acetylcholin induzierten Miniatur-Endplattenströmen zeigen, daß deren Dauer bei Temperaturabnahme länger wird.
Durch die Bindung des Liganden an den Rezeptor geht dieser nach der Aktivierung in einen desensitivierten Zustand (PE°) über, der durch Abspaltung (d) des Pheromons P vom Rezeptor rückgängig gemacht wird (Resensitivierung), d.h. in E übergeht. Um eine erneute Wechselwirkung des abgespaltenen Pheromons mit dem Rezeptor zu verhindern, muß dieses inaktiviert oder von der Zellmembran entfernt werden (e). Aber auch die nach Reizende noch auf der Antenne verbliebenen Moleküle müssen in eine unwirksame Form überführt werden. Für diese Vorgänge werden zur Zeit zwei mögliche Prozesse diskutiert:
a) Die Bindung des Pheromonmoleküls an ein "Bindeprotein", das bereits in der Lymphe von Sensillen bei Antheraea polyphemus nachgewiesen werden konnte (Vogt und Riddiford 1981a, b, Kaissling et al. 1985) und b) der enzymatische Abbau der Pheromonmoleküle, die sich nach Reizende noch auf der Antenne befinden (Kasang 1971, Ferkovich et al. 1973a, b, Vogt 1984).
Die Temperaturabhängigkeit der De- und Resensitivierung wurde bereits von Magazanik und Vyskočil (1974) an der postsynaptischen Membran von Froschmuskelfasern untersucht. Dabei konnte festgestellt werden, daß sowohl die De- als auch die Resensitivierungsgeschwindigkeit mit steigender Temperatur zunimmt; die Zeitdauern für den ersten Prozeß sind kürzer als für den

zweiten. Die Halbwertszeiten für die Desensitivierung (Resensitivierung) betragen bei 32°C 1.7 (4.7) s, 22°C 2.7 (5.9) s, 12°C 5.2 (7.8) s und bei 2°C 17.3 (18.1) s. Diese an Acetylcholin-Rezeptoren gewonnenen Daten lassen sich nicht direkt auf die De- und Resensitivierungsprozesse beim Pheromonrezeptor übertragen, doch sind hier ähnliche Abhängigkeiten zu erwarten.

Diese Ergebnisse machen eine Erklärung der beiden verschiedenen Zeitkonstanten für die relative Rezeptorpotentialänderung bei 0°C (Abb. 47) möglich.

Die erste Konstante folgt aus der zeitlichen Verteilung des Beginns der Aktivierung der Rezeptoren und der damit verbundenen Öffnung der Ionenkanäle. Die größere Zeitkonstante ergibt sich daraus, daß noch während der Reizzeit einige Rezeptoren wieder oder außerdem aktivierbar werden und damit zu einer zwar langsameren aber weiteren Erhöhung des Rezeptorpotentials führen. Die diesen beiden Konstanten zu Grunde liegenden Prozesse treten nur bei niedrigen Temperaturen in Erscheinung. Dies ist auch zu erwarten, da bei höheren Temperaturen mehr Rezeptoren aktivierbar sind und die De- als auch die Resensitivierungsgeschwindigkeit größer ist.

Der langsamere Anstieg zum Plateau des Rezeptorpotentials bei 0°C gegenüber 20°C läßt sich wie folgt erklären:

a) Im Schema (Abb. 51) sind die Geschwindigkeitskonstanten a und b temperaturabhängig, d.h. bei tieferen Temperaturen resultiert eine langsamere Umsetzungsgeschwindigkeit des chemischen Reizes am Rezeptor in einen Ionenstrom.
b) Bei niedrigeren Temperaturen ist die Aktivität der Ionenpumpen, die die Voraussetzung für das Rezeptorpotential liefern, geringer. Dieses hat wahrscheinlich seinen Ursprung in elektrogenen Ionenpumpen, die aufgrund der hohen Mitochondriendichte in der Somaregion der Rezeptorzelle und dem inneren dendritischen Segment vermutet werden (Thurm 1974, Steinbrecht und Gnatzy 1984).

Das Plateau des Rezeptorpotentials stellt den "steady-state-Zustand" dar, bei beim pro Zeiteinheit die Zahl der geöffneten Ionenkanäle (PE*) konstant ist; das bedeutet, daß die Ge-

schwindigkeit der Aktivierung (Abb. 51a, b) gleich der Geschwindigkeit für die De- und Resensitivierung (Abb. 51c, d) ist.
Die festgestellten Optimumskurven (Abb. 39, 40) ergeben sich, bedingt durch die kurze Reizzeit aus einer geringeren Anzahl von aktivierten Pheromon-Rezeptor-Komplexen, die nicht zum Erreichen des "steady-state-Zustandes" ausreicht.
Die Abnahme der "steady-state-Amplituden" mit zunehmender Temperatur läßt sich damit erklären, daß die Geschwindigkeitskonstante c schneller zunimmt, als a und b. Dies führt zu einer kürzeren Öffnungszeit der Kanäle bei höheren Temperaturen.
Der Effekt der Hysterese könnte mit dadurch erklärt werden, daß die Energieversorgung der für das Rezeptorpotential verantwortlichen Prozesse (Abb. 51: g) nach warmer Vorgeschichte besser ist. Dies läßt sich zum jetzigen Zeitpunkt nicht ausschließen, doch ist die Hysterese auch durch andere temperaturabhängige Vorgänge erklärbar.
So vermuten z.B. Anderson et al. (1977), daß der Zustand der Lipide in der direkten Umgebung des Ionenkanals dessen Wirkungsweise beeinflußt. Fischbach und Lass (1978) kommen zu dem Schluß, daß die Fluidität der Membranlipide in der "Mikroumgebung" des Acetylcholinrezeptors dessen Öffnungsgrad entscheidend mitbestimmt. Diese Vorstellung wird durch Untersuchungen an Ionenkanälen der Nervenmembranen von Muscheln, Krebsen, Hummern und Tintenfischen unterstützt (Romey et al. 1980). Weiterhin wird darauf hingewiesen, daß der Anteil der Kanäle, deren unmittelbare Lipidumgebung sich im rigiden Zustand befindet, nicht aktivierbar ist und deshalb elektrophysiologische Experimente nur den Anteil der Ionenkanäle erfassen, die einen fluiden Lipidring besitzen.
Diese Ergebnisse lassen eine Erklärung des in dieser Arbeit festgestellten Hysterese-Effektes zu: Bei gleicher Temperatur unterscheidet sich, abhängig von der Vortemperatur, die Anzahl der aktivierbaren Kanäle, deren Öffnungsgeschwindigkeit oder deren Öffnungsweite. Dies führt zu einem höheren Rezeptorpotential nach "warmer" Vortemperatur.

Das Auffinden der Hysterese kann als weiterer Hinweis auf die Beteiligung von Lipiden an der Funktionsweise der Ionenkanäle gewertet werden. Nimmt man, wie auf S. 80 bereits erwähnt, in der Rezeptorregion eine Domönenstruktur, bestehend aus Lipiden und Proteinen, an, so kann die Wechselwirkung mit dem Pheromon zu einer Phasenänderung führen, wenn metastabile Zustände (Neumann 1973, Estep et al. 1980, Freire et al. 1980, Sackmann 1982, Barenholz et al. 1983, Eibl 1984) vorliegen. Die Zahl der Domänen, die sich in diesem Zustand befinden und die Zahl der aktivierbaren Kanäle in einer Domänenstruktur sollte von der Temperaturvorgeschichte abhängen und Anlaß zu Hysterese geben.
Dieses Modell vermag zum jetzigen Zeitpunkt die vorgestellten Befunde zu erklären. Es sei jedoch noch einmal betont, daß es sich hier um eine Arbeitshypothese handelt, die zu weiteren Untersuchungen Anregungen gibt. Um die dargelegten Vorstellungen abzusichern, wird man auch anderen Erklärungsmöglichkeiten nachgehen müssen, um sie gegebenenfalls einzubeziehen oder auszuschließen.

5.6. Temperaturabhängigkeit der Impulsfrequenz, des Rezeptorpotentials und dessen Umsetzung in Aktionspotentiale

Der Effekt, daß bei gleichbleibender Reizquantität die Summe der Aktionspotentiale mit höheren Temperaturen zu- und von einer bestimmten Temperatur an rapide abnimmt (Abb. 42), steht im Einklang mit anderen Ergebnissen. So konnten z.B. Hatt (1983) am Aminosäurerezeptor, French und Kuster (1982) und French (1985) bei der mechanischen Transduktion an Fühlborsten der Küchenschabe ähnliche Effekte feststellen.
Die Verdoppelung der Halbwertszeit für die Anfangsphase des Rezeptorpotentials bei einer Temperaturdifferenz von 20°C (Abb. 47) schließt die Diffusion als geschwindigkeitsbestimmenden Prozeß für den Rezeptorpotentialverlauf aus: die temperaturbeeinflußte Diffusion dürfte hier nur zu einer Erhöhung der Halbwertszeit von ca. 2 % führen.
Betrachtet man die maximale Amplitude des Rezeptorpotentials und die aufsummierte Anzahl der Aktionspotentiale (Abb. 45), so wird die unterschiedliche Temperaturabhängigkeit für beide Größen deutlich. Während die Amplitude bei höheren Temperaturen kleiner wird, nimmt die Anzahl der Aktionspotentiale zu; d.h. die Rezeptorpotentialhöhe und die Anzahl der Aktionspotentiale besitzen eine entgegengesetzte Temperaturabhängigkeit. Trägt man deren aufsummierte Anzahl als Funktion der erreichten Rezeptorpotentialhöhe für verschiedene Temperaturen auf (Abb. 46), so ist ersichtlich, daß bei 20°C ein bedeutend niedrigeres Rezeptorpotential für die Auslösung von Aktionspotentialen notwendig ist, als bei 0°C. Dies weist auf eine zunehmende Schwellenerniedrigung für die Auslösung der Nervenimpulse bei höheren Temperaturen hin.
Des weiteren wird aus Abb. 48 deutlich, daß die maximale Impulsfrequenz in der Anfangsphase der Stimulation ausgelöst wird. Bezieht man die "Spikefrequenz" auf die bereits erreichte Rezeptorpotentialhöhe (Abb. 49), so zeigt sich, daß bei gleichem Reiz die maximale Impulsfrequenz bei 20°C bei einem niedrigeren Rezeptorpotentialwert als bei 0°C erreicht wird. Zu-

nehmende Temperaturen führen zu größerer Anstiegssteilheit der Frequenz der Aktionspotentiale wie in Abb. 50 gezeigt wird.
Zu ähnlichen Ergebnissen kommen Salánki et al. (1973) bei Untersuchungen an Ganglienzellen von Helix pomatia L.. Sie konnten feststellen, daß mit zunehmender Temperatur die Zeit zwischen zwei "Spikes" abnimmt, die Frequenz also größer wird.
Zu demselben Resultat kommen auch Heitler et al. (1977) bei Ableitungen von Heuschreckenneuronen. Auch French (1985) konnte an Fühlborsten der Küchenschabe bei der mechanischen Transduktion eine erhöhte mittlere Impulsfrequenz der Aktionspotentiale mit zunehmender Temperatur messen.
Abschließend sei angemerkt, daß diese Ergebnisse die Frage aufwerfen, wie das Rezeptorpotential in seinem Verlauf in der Folge von Aktionspotentialen codiert wird. Für das genaue Verständnis dieses temperaturabhängigen Vorgangs sind weitere detaillierte Untersuchungen auch bei unterschiedlichen Reizstärken nötig.

5.7. Die biologische Bedeutung der Optimumskurven

In allen untersuchten Fällen wurde bei den verschiedenen Lepidopterenarten für die Temperaturabhängigkeit der Elektroantennogramme (EAG) bei einer Reizdauer von einer Sekunde ein Verlauf mit einem mehr oder weniger stark ausgeprägten Maximum festgestellt (Tab. 2, Abb. 16). Die mit dieser Meßmethode gewonnenen Ergebnisse sind von biologischem Interesse. Der bei Operophtera brumata festgestellte Temperaturbereich um 12°C mit maximaler EAG-Antwort (Bestmann und Dippold, 1983) war auch bei Windkanalversuchen mit dem synthetisierten Sexualpheromon (Bestmann et al. 1982) der Bereich, im dem die Männchen maximale Aktivität zeigten. Optimale Verhaltensantworten (Flügelschwirren, Gegenwindflug, Kontakt mit der Duftquelle und versuchte Kopulation) konnten zwischen 7 und 15°C erzielt werden, während die Aktivität unter 4°C und über 17°C signifikant nied-

riger war (Roelofs et al. 1982). Bei Agrotis segetum durchläuft die EAG-Amplitude in Abhängigkeit von der Temperatur ein Optimum im Bereich von 15°C (Tab. 2, Abb. 16). Diese ist auch für die Aktivitätsphase dieser Art anzunehmen, da die Imagines der ersten Generation von Mitte Mai bis Ende Juli fliegen, die der zweiten von Mitte August bis Ende November (Koch 1972). Die Weibchen dieser Art beginnen im Mittel ca. vier Stunden nach Einbruch der Dunkelheit mit dem Locken (Löfstedt et al. 1982). Die Lockzeit der Weibchen stimmt mit der Flugaktivität der Männchen überein (Truman 1973).
Bei Mamestra brassicae bestehen ähnliche Verhältnisse. Das EAG-Optimum liegt hier zwischen 15 und 20°C, die Flugzeit ist von Anfang Mai bis Ende Oktober (Koch 1972). Die Weibchen zeigen noch vor Mitternacht ihre Hauptaktivität. Diese wird aber auch vom Alter der Tiere und von der Temperatur bestimmt (Subchev 1983). Auch bei den beiden Antheraeaarten ist das EAG-Amplitudenmaximum mit der Temperatur in der Hauptaktivitätsphase korreliert. Die bei diesen Versuchen verwendeten Antheraea pernyi wurden im Nord-Osten Chinas im Freiland gezüchtet. Sie durchlaufen dort zwei Generationen pro Jahr, eine im Frühjahr, die andere im Spätsommer. Einige Stunden nach Einbruch der Dunkelheit liegen die Temperaturen etwa bei 10°C (persönliche Mitteilung von Wu Cai Hong, Universität Peking). Truman (1973) konnte für diese Art zeigen, daß sich sowohl die Männchen in ihrer Flugzeit, als auch die Weibchen in ihrer Lockphase an die Jahreszeit und ihre Temperaturen anpassen können. Diese Aktivitätszeiten werden in der Puppe festgelegt. Bei Temperaturen von 12°C in der Puppenruhe beginnt die Aktivitätsphase schon 1.9 $\pm$ 0.9 Stunden nach dem Dunkelwerden, während nach 25°C in der Prägezeit die Hauptaktivität 5.3 $\pm$ 1.1 Stunden nach "Licht-Ende" beginnt. Zu ähnlichen Ergebnissen kam man bei Argyrotaenia velutinana. Im kühlen Frühjahr finden der Flug der Männchen und das Locken der Weibchen schon nachmittags statt, während im Juli die Aktivität auf die Nacht verlegt wird (Cardé et al. 1975). Auch Antheraea polyphemus hat die Flugzeit im Frühjahr. Temperaturen um 10°C einige Stunden nach Einbruch der Dunkelheit sind wahrscheinlich. Auch hier besteht also ein

direkter Zusammenhang zwischen dem temperaturabhängigen EAG-Optimum und der Temperatur, die in der Hauptaktivitätsphase herrscht.
Cardé et al. (1975) weisen weiterhin auf die entscheidende Rolle der Temperatur für die Aktivitätszeit hin. Sie kommen zu dem Schluß, daß die Schmetterlinge ihren endogenen sexuellen Aktivitätsrhythmus mit der Tagestemperatur synchronisieren.

6. Ausblick

In weiterführenden Untersuchungen verspricht die hier gefundene Substanzabhängigkeit der Hysterese neue Beiträge zur Beantwortung der Frage, inwieweit Pheromone oder deren Analoge den Aggregationszustand der Rezeptormembran beeinflussen und abhängig von ihrer Struktur fluidieren oder verfestigen. Ist das der Fall, so sollte sich dies bei Messungen der Temperaturabhängigkeit des Rezeptorpotentials in Abhängigkeit von der zur Stimulation verwendeten Struktur des Reizmoleküls und in einer unterschiedlichen Ausprägung der Hysteresekurven zeigen.

Eine weitere Analyse der Umsetzung des Rezeptorpotentials in die Impulsfrequenz der Aktionspotentiale auch bei verschiedenen Reizquantitäten könnte zu einem tieferen Verständnis der an der Transduktion beteiligten Prozesse und der Codierung zwischen Reiz und Erregung führen.

7. Zusammenfassung

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, einen elektrophysiologischen Meßplatz aufzubauen, der es gestattet, die Temperaturabhängigkeit des Elektroantennogramms (EAG) und des Elektrosensillogramms (ESG) bei Pheromonreizung zu untersuchen.
Das EAG zeigt in seiner Temperaturabhängigkeit Optimumskurven, deren Maxima abhängig von der untersuchten Schmetterlingsart und der verwendeten Reizquantität variieren (Tab. 2, Abb. 16, 17, 18, 20).
Setzt man die Antenne einem Temperaturzyklus aus, so zeigt sich, daß die bei abnehmender Temperatur gemessenen Werte über denen bei zunehmender liegen (Tab. 4, Abb. 23, 30, 31). In Analogie zu ähnlichen Befunden an anderen biologischen Systemen wurde dieser Effekt Hysterese genannt. Diese ist zeitlich begrenzt (vgl. Abb. 24), nicht an eine bestimmte Reizquantität gebunden (Abb. 25), verändert jedoch ihren Verlauf in Abhängigkeit von der Reizquellenbeladung (Abb. 26), der Zeit zwischen zwei Reizen (Abb. 27, 28) und der Reizsubstanz (Abb. 29).

Sowohl das EAG als auch das Rezeptorpotential erreichen bei höheren Temperaturen schneller ihren für eine bestimmte Temperatur maximalen Wert (Abb. 33, 34, 38b).
Die Rezeptorpotentialamplitude nimmt unter den gewählten Meßbedingungen mit zunehmender Temperatur ab (Abb. 38a, 45a), zeigt aber bei kurzen Reizzeiten Optimumskurven (Abb. 39, 40).
Der Effekt der Hysterese konnte beim ESG sowohl beim Rezeptorpotential (Abb. 43, 44, 45a) als auch bei der Anzahl der dadurch ausgelösten Aktionspotentiale gefunden werden (Abb. 42, 43, 44, 45b).
Im weiteren wurde die Umsetzung des Rezeptorpotentials in die Impulsfrequenz der Aktionspotentiale näher analysiert (Abb. 46, 48, 49, 50). Dabei wird deutlich, daß weniger die für eine bestimmte Temperatur bei gleichbleibender Reizquantität erreichte Höhe des Rezeptorpotentials, sondern vielmehr dessen Anfangsphase für die Auslösung von Aktionspotentialen verantwortlich ist. In der Diskussion werden die Gemeinsamkeiten zwischen

EAG und ESG und die Optimums- und Hysteresekurven mit experimentellen Befunden anderer Autoren verglichen und an Hand eines Schemas diskutiert. Des weiteren wird auf die Umsetzung des Rezeptorpotentials in die Aktionspotentialfolge eingegangen und abschließend eine mögliche biologische Bedeutung der Optimumskurven erörtert.

8. Literaturverzeichnis

Anderson, C.R., Cull-Candy, S.G., Miledi, R.: Potential-dependent transition temperature of ionic channels induced by glutamate in locust muscle. Nature 268, 663-665 (1977).

Arn, H.: List of sex pheromones of lepidoptera and related attractants with special reference to European species. Swiss Federal Research Station, CH-8820 Wädenswil (1985).

Baker, T.C., Cardé, R.T.: Techniques for behavioral bio-assays. In: Techniques in Pheromone Research (Eds. Hummel, H.E. and Miller, T.A.), 45-73. New York, Berlin, Heidelberg, Tokyo: Springer Verlag (1984).

Barenholz, Y., Freire, E., Thompson, T.E., Correa-Freire, M.C., Bach, D., Miller, I.R.: Thermotropic behavior of glucosylceramide-dipalmitoylphosphatidylcholine mixtures. Biochemistry 22, 3497-3501 (1983).

Benndorf, K., Nilius, B.: Temperature dependent properties of sodium inward current of frog atrial trabecles. Pflügers Arch. 400, 329-331 (1984).

Bernard, J., Guillet, J.C.: Changes in the receptor potential under polarizing currents in two insect receptors. J. Insect Physiol. 18, 2173-2187 (1972).

Bestmann, H.J., Rösel, P., Vostrowsky, O.: Alkylverzweigte Analoge von Lepidopterenpheromonen. Liebigs Ann. Chem. 8, 1189-1204 (1979).

Bestmann, H.J., Vostrowsky, O.: Chemistry of insect pheromones. In: Chemie der Pflanzenschutz- und Schädlingsbekämpfungsmittel (Ed. Wegler) 6, 29-164. Berlin, Heidelberg, New York: Springer Verlag (1980).

Bestmann, H.J., Brosche, T., Koschatzky, K.H., Michaelis, K., Platz, H., Roth, K., Süß, J., Vostrowsky, O., Knauf, W.: 1,3,6,9-Nonadecatetraen, das Sexualpheromon des Frostspanners Operophtera brumata (Geometridae). Tetrahedron Letters 23 (39), 4007-4010 (1982).

Bestmann, H.J., Vostrowsky, O.: Insektenpheromone, Struktur und Vorkommen - Isolierung und Strukturaufklärung - Synthese - Biologische Aktivität und Verhaltensauslösung - Anwendung im Pflanzenschutz. Naturwissenschaften 69, 457-471 (1982a).

Bestmann, H.J., Vostrowsky, O.: In: Olfaction and Endocrine Regulation (Ed. Breipohl, W.) 7, 253-265. London: IRL Press Limited (1982b).

Bestmann, H.J., Dippold, K.: Temperaturabhängigkeit von Elektroantennogrammen bei Lepidopteren. Naturwissenschaften 70, 47-48 (1983).

Boeckh, J., Kaissling, K.E., Schneider, D.: Insect olfactory receptors. Cold Spring Harbour Symposia on Quantitative Biology 30, 263-279 (1965).

Boeckh, J., Kaissling, K.W., Schneider, D.: In: Lehrbuch der speziellen Zoologie (Ed. Kaestner, A.), Bd. I, Wirbellose (3) A, 130. Stuttgart: Fischer Verlag (1972).

Cardé, R.T., Comeau, A., Baker, T.C., Roelofs, W.L.: Moth mating periodicity: Temperature regulates the circadian gate. Experientia 31 (1), 46-48 (1975).

Cardé, R.T., Elkinton, J.S.: Field trapping with attractans: Methods and interpretation. In: Techniques in Pheromone Research (Eds. Hummel, H.E. and Miller, T.A.), 111-129. New York, Berlin, Heidelberg, Tokyo: Springer Verlag (1984).

Cohen, I.S., van der Kloot, W.: Effects of low temperature and terminal membrane potential on quantal size at frog neuromuscular junction. J. Physiol. 336, 335-344 (1983).

Eibl, H.: Phospholipide als funktionelle Bausteine biologischer Membranen. Angew. Chem. 96, 247-262 (1984).

Erler, G., Thurm, U.: Dendritic impulse initiation in an epithelial sensory neuron. J. Comp. Physiol. 142, 237-239 (1981).

Estep, T.N., Calhoun, W.I., Barenholz, Y., Biltonen, R.L., Shipley, G.G., Thompson, T.E.: Evidence for metastability in stearoylsphingomyelin bilayers. Biochemistry 19, 20-24 (1980).

Ferkovich, S.M., Mayer, M.S., Rutter, R.R.: Conversion of the sex pheromone of the cabbage looper. Nature 242, 53-55 (1973a).

Ferkovich, S.M., Mayer, M.S., Rutter, R.R.: Sex pheromone of the cabbage looper: reactions with antennal proteins in vitro. J. Insect Physiol. 19, 2231-2243 (1973b).

Fischbach, G.D., Lass, Y.: A transition temperature for acetylcholine channel conductance in chick myoballs. J. Physiol. 280, 527-536 (1978).

Freire, E., Bach, D., Correa-Freire, M., Miller, I., Barenholz, Y.: Calorimetric investigation of the complex phase behavior of glucocerebroside dispersion. Biochemistry 19, 3662-3665 (1980).

French, A.S., Kuster, J.E.: The effects of temperature on mechanotransduction in the cockroach tactile spine. J. Comp. Physiol. 147, 251-258 (1982).

French, A.S.: The effects of temperature on action potential encoding in the cockroach tactile spine. J. Comp. Physiol. A 156, 817-821 (1985).

Fujishiro, N., Kijima, H., Morita, H.: Impulse frequency and action potential amplitude in labellar chemosensory neurones of Drosophila melanogaster. J. Insect Physiol. 30, 317-325 (1984).

Hatt, H.: Effects of temperature on the activity of the amino acid receptor in the crayfish walking leg. J. Comp. Physiol. 152, 405-409 (1983).

Heitler, W.J., Goodman, C.S., Rowell, C.H.F.: The effects of temperature on the threshold of identified neurons in locust. J. Comp. Physiol. 117, 163-182 (1977).

Helenius, A., Simons, K.: Solubilization of membranes by detergents. Biochim. Biophys. Acta 415, 29-75 (1975).

Höfer, M.: Transport durch biologische Membranen. Weinheim, New York: Verlag Chemie (1977).

Ishiko, N., Loewenstein, W.R.: Effects of temperature on the generator and action potentials of a sense organ. J. Gen. Physiol. 45, 105-124 (1961).

Jacobson, M.: Insect Sex Pheromones. New York: Academic Press (1972).

Kaissling, K.E.: Insect olfaction. In: Handbook of Sensory Physiology 4 (Ed. Beidler, L.M.), Chemical senses: Part 1, 351-431. Berlin, Heidelberg, New York: Springer Verlag (1971).

Kaissling, K.E.: Riechphysiologische Untersuchungen an Insekten. In: Mitteilungen aus der Max-Planck-Gesellschaft 6, 400-423 (1974a).

Kaissling, K.E.: Topical stimulation of the outer dendrites of single olfactory cells in saturniid moth. Abstr. 1st Cong. ECRO, Paris, 26 (1974b).

Kaissling, K.E.: Structure of odour molecules and multiple activities of receptor cells. In: Olfaction and Taste (Eds. Le Magnen, P. and Mac Leod, P.) 6, 9-16. London, Information Retrieval (1977).

Kaissling, K.E.: Molekulares Erkennen. In: Biophysik (Eds. Hoppe, W. et al.) 402-414. Berlin, Heidelberg, New York: Springer Verlag (1978).

Kaissling, K.E., Thorson, J.: Insect olfactory sensilla: Structural, chemical and electrical aspects of the funtional organisation. In: Receptors for Neurotransmitters, Hormones and Pheromones in Insects (Eds. Satelle, D.B. et al.) 261-282. Elsevier: North-Holland Biomedical Press (1980).

Kaissling, K.E., Klein, U., de Kramer, J.J., Keil, T.A., Kanaujia, S., Hemberger, J.: Insect olfactory cells: Electrophysiological and biochemical studies. In: Molecular Basis of Nerve Activity (Eds. Changeux, J.P. et al.) 1-11. Berlin, New York: de Gruyter Verlag (1985).

Kasang, G.: Bombykol reception and metabolism on the antennae of the silkmoth Bombyx mori. In: Gustation and Olfaction (Eds. Ohloff, G. and Thomas, A.F.), 245-250. London, New York: Academic Press (1971).

Keil, T.A., Steinbrecht, R.A.: Interrelations of sensory, enveloping and glial cells in epidermal mechano- and chemoreceptors of insects. Verh. Dtsch. Zool. Ges. 76, 294 (1983).

Keil, T.A.: Reconstruction and morphometry of silkmoth olfactory hairs: A comparative study of sensilla trichodea on the antennae of male Antheraea polyphemus and Antheraea pernyi (Insecta, Lepidoptera). Zoomorphology 104, 147-156 (1984).

Koch, M.: Wir bestimmen Schmetterlinge, Bd. 3: Eulen. Leipzig: Neumann Verlag (1972).

de Kramer, J.J., Kaissling, K.E., Keil, T.A.: Passive electrical properties of insect olfactory sensilla may produce the biphasic shape of spikes. Chemical Senses 8 (3), 289-295 (1984).

de Kramer, J.J.: The electrical circuitry of an olfactory sensillum in Antheraea polyphemus. J. Neurosci. 5, 2484-2493 (1985).

Löfstedt, C., Van Der Pers, J., Lofqvist, J., Lanne, B., Appelgren, M., Bergström, G., Thelin, B.: Sex pheromone components of the turnip moth, Agrotis segetum: Chemical identification, electrophysiological evaluation and behavioral activity. J. Chem. Ecol. 8 (10), 1305-1321 (1982).

Löfstedt. C., Van Der Pers J.N.C., Lofqvist, J., Lanne, B.S.: Sex pheromone of the cone-pyralid Dioryctria abietella. Ent. Exp. Appl. 34, 20-26 (1983).

Lullies, H.: Peripherer Ner. In: Kurzgefaßtes Lehrbuch der Physiologie (Ed. Keidel, W.D.) 14, 1-39. Stuttgart: Thieme Verlag (1975).

Magazanik, L.G., Vyskočil, F.: The effect of temperature on desensitization kinetics at the post-synaptic membrane of the frog muscle fibre. J. Physiol. 249, 285-300 (1975).

Morita, H., Yamashita, S.: The back-firing of impulses in a labellar chemosensory hair of the fly. Mem. Fac. Sci. Kyushu Univ., Ser. E. (Biol.) 3, 81-87 (1959).

Morita, H., Yamashita, S.: Receptor potentials recorded from sensilla basiconica on the antenna of silkworm larva, Bombyx mori. J. Exp. Biol. 38, 851-861 (1961).

Nagai, T.: On the relationship between the electro-antennogram and simultaneously recorded single sensillum response of the european corn borer, Ostrinia nubilalis. Arch. Insect Biochem. Physiol., 85-91 (1983).

Neumann, E.: Molekulare Hysterese und ihre kybernetische Bedeutung.. Angew. Chem. 85 (10), 430-443 (1973).

Priesner, E.: Artspezifität und Funktion einiger Insekten-pheromone. Fortschritte Zoologie 22, 49-135 (1973).

Priesner, E., Jacobson, M., Bestmann, H.J.: Structure-response relationships in noctuid sex pheromone reception. Z. Naturforsch. 30c, 283-293 (1975).

Roelofs, W.L., Hill, A.S., Linn, C.E., Meinwald, J., Jain, S.C., Herbert, H.J., Smith, R.F.: Sex pheromone of the winter moth, a geometrid with unusually low temperature precopulatory responses. Science 217, 657-659 (1982).

Romey, G., Chicheportiche, R., Lazdunski, M.: Transition temperatures of the electrical activity of ion channels in the nerve membrane. Biochim. Biophys. Acta 602, 610-620 (1980).

Rowe, E.S.: Thermodynamic reversibility of phase transitions. Specific effects of alcohols on phosphatidylcholines. Biochim. Biophys. Acta 813, 321-330 (1985).

Sackmann, E.: Physikalische Grundlagen der molekularen Organisation und Dynamik von Membranen. In: Biophysik (Eds. Hoppe, W. et al.), 439-471. Berlin, Heidelberg, New York: Springer Verlag (1982).

Salánki, J., Vadász, I., Véró, M.: Temperature dependence of the activity pattern in the Br-type cell of the snail Helix pomatia L.. Acta Physiol. Acad. Sci. Hung. 43 (2), 115-124 (1973).

Schneider, D.: Electrophysiological investigation of insect olfaction. In: Olfaction and Taste 1, 85-103. Oxford, London, New York, Paris: Pergamon Press (1963a).

Schneider, D.: Vergleichende Rezeptorphysiologie am Beispiel der Riechorgane von Insekten. In: Jahrbuch der Max-Planck-Gesellschaft, 150-176 (1963b).

Schneider, D.: Pheromone von Insekten, Produktion - Rezeption - Inaktivierung. Nova Acta Leopoldina N.F. 51, 249-278 (1980).

Schneider, D.: Pheromone biology in lepidoptera: Overview, some recent findings, and some generalizations. In: The Comperative Physiology of Sensory Systems (Eds. Bolis, L. et al.), 301-313. Cambridge: Cambridge University Press (1984).

Schwarz, W.: Temperature experiments on nerve and muscle membranes of frogs. Indication for a phase transition. Pflügers Arch. 382, 27-34 (1979).

Steinbrecht, R.A., Kasang, G.: Capture and conveyance of odour molecules in an insect olfactory receptor. In: Olfaction and Taste 4 (Ed. Schneider, D.), 193-199. Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft (1972).

Steinbrecht, R.A., Gnatzy, W.: Pheromone receptors of Bombyx mori and Antheraea pernyi. I. Reconstruction of the cellular organisation of the sensilla trichodea. Cell Tissue Res. 235, 25-34 (1984).

Stephens, P.J., Atwood, H.L.: Peripheral generation and modulation of crustacean motor axon activity at high temperatures. J. Comp. Physiol. 142, 309-314 (1981).

Subchev, M.A.: Effect of age, temperature, photoperiod and light on the calling of Mamestra brassicae L. females. Ecology 12, 65-75 (1983).

Thurm, U.: Die Beziehung zwischen mechanischen Reizgrößen und stationären Erregungszuständen bei Borstenfeld-Sensillen von Bienen. J. Comp. Physiol. 46, 351-382 (1963).

Thurm, U.: The generation of receptor potentials in epithelial receptors. In: Olfaction and Taste IV (Ed. Schneider, D.), 95-101. Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft (1972).

Thurm, U.: Basics of the generation of receptor potentials in epidermal mechanoreceptors of insects. In: Abh. Rheinisch-Westfäl. Akad. Wiss. Symp.; Mechanoreception (Ed. Schwartzkopff, J.) 53, 355-385 Opladen: Westdeutscher Verlag (1974).

Thurm, U.: Grundzüge der Transduktionsmechanismen in Sinneszellen. In: Biophysik (Eds. Hoppe, W. et al.), 391-414. Berlin, Heidelberg, New York: Springer Verlag (1978).

Trahms, L., Klabe, W.D., Boroske, E.: H-NMR-study of the three low temperature phases of dppc-water systems. Biophys. J. 42, 285-293 (1983).

Träuble, H., Haynes, D.H.: The volume change in lipid bilayer lamellae at the crystalline-lipid phase transition. Chem. Phys. Lipids 7, 324-335 (1971).

Truman, J.W.: Temperature sensitive programming of the silkmoth flight clock: A mechanism for adapting to the seasons. Science 182, 727-729 (1973).

Uehara, S., Morita, H.: The effect of temperature on the labellar chemoreceptors of the blowfly. J. Gen. Physiol. 59, 213-226 (1972).

Vogt, R.G., Riddiford, L.M.: Pheromone deactivation by antennal proteins of lepidoptera. In: Regulation of Insect Development and Behaviour (Eds. Sehnal, A. et al.), 955-967. Wroclaw: Polytechnical Univ. of Wroclaw Press (1981a).

Vogt, R.G., Riddiford, L.M.: Pheromone binding and inactivation by moth antennae. Nature 293, 161-163 (1981b).

Voet, R.G.: The biochemical design of sex pheromone reception in the wild silk moth Antheraea polyphemus. Seattle: Thesis. Univ. of Washington (1984).

Wax, R.: Der Einfluß von Alkanolen und Pheromonen auf die Phasenumwandlungstemperaturen von Modellmembranen. Dissertation an der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg (1984).

Williams, R.J.P.: Phases and phase structure in biological systems. Biochim. Biophys. Acta 416, 237-286 (1975).

Wolbarsht, M.L., Hanson, F.E.: Electrical activity in the chemoreceptors of the blowfly. III. Dendritic action potentials. J. Gen. Physiol. 48, 673-683 (1965).

Zack, C.: Sensory adaptation in the sex pheromon receptor cells of saturniid moth. Dissertation Fak. Biol.. Ludwigs-Maximilians-Universität München (1979).

9. Danksagung

Herrn Prof. Dr. H.J. Bestmann danke ich für die Anregung zu dieser Arbeit, die Möglichkeit zu ihrer Durchführung am Institut für Organische Chemie II, die Bereitstellung der benötigten Hilfsmittel, die ständige Diskussionsbereitschaft und für das äußerst große Interesse an dieser Arbeit.

Herrn Prof. Dr. G. Seitz danke ich für seine Diskussionsbereitschaft bei der Abfassung der Arbeit.

Herrn Prof. Dr. K.E. Kaißling vom Max-Planck-Institut für Verhaltensphysiologie, Seewiesen, danke ich für die Einführung in die Elektrosensillogrammtechnik, für die begleitenden Diskussionen und für die Durchsicht der Endfassung dieser Arbeit.

Bei Herrn Heinecke aus der Elektronikwerkstatt des Max-Planck-Instituts für Verhaltensphysiologie, Seewiesen, bedanke ich mich für die Hilfe bei der Erstellung des elektronischen Teils der Apparatur und für die ständige Betreuung.

Mein Dank gilt ferner allen Mitarbeitern und Angehörigen der Institute für Organische Chemie II und Zoologie II, die zu dieser Arbeit durch tatkräftige Unterstützung und Diskussion beigetragen haben.

Diese Arbeit wurde durch DFG-Mittel im Rahmen des Schwerpunktprogrammes: "Molekulare Mechanismen der Signalaufnahme" unterstützt.

10. Lebenslauf

2.3.1955	geboren in Bamberg als zweiter Sohn von Baptist und Benigna Dippold
1961-1965	Besuch der Volksschule St. Gangolf in Bamberg
1965-1974	Besuch des Franz-Ludwig-Gymnasiums in Bamberg Abschluß: Allgemeine Hochschulreife
1974-1975	Zivildienst im Erzbischöflichen Jugendamt in Bamberg
WS 1975/76	Beginn des Studiums der Mathematik/Physik für das Lehramt an Gymnasien an der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg
WS 1976/77	Beginn des Studiums Biologie Diplom und Biologie Lehramt an Gymnasien
1.3.1982	Diplom in Biologie
1.6.1982	1. Staatsexamen in Biologie/Physik für das Lehramt an Gymnasien
seit 15.5.1982	Wissenschaftlicher Mitarbeiter im Institut für Organische Chemie der Universität Erlangen
14.2.1984	Eheschließung mit Petra-Claudia Lampe
27.8.1984	Geburt des ersten Sohnes Christoph Dippold

COPY PRINT
Klaus Feller
Marquardsenstr. 21
8520 Erlangen
Tel.: 0 91 31 / 24 220